日 本 水 産 学 会 誌

第二十六巻総目次

(昭和35年1月～昭和35年12月)

Bulletin of the Japanese
Society of Scientific Fisheries
Contents of Volume 26
1 9 6 0

昭 和 三 十 六 年

日 本 水 産 学 会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO, JAPAN

目　次

第 1 号　　1960 年 1 月

第 2 号　　1960 年 2 月

第3号 1960年3月

第 4 号　1960 年 4 月

第 5 号　1960 年 5 月

第 6 号　　1960 年 6 月

第 7 号　　1960 年 7 月

第 8 号　　1960 年 8 月

第 9 号　1960 年 9 月

第 10 号　　1960 年 10 月

第 11 号　　1960 年 11 月

第 12 号　1960 年 12 月

CONTENTS

No. 1 January, 1960

No. 2 February, 1960

No. 3 March, 1960

No. 4 April, 1960

No. 5 May, 1960

No. 6 June, 1960

No. 7 July, 1960

No. 8 August, 1960

No. 9 September, 1960

No. 10 October, 1960

No. 11 November, 1960

No. 12 December, 1960

日本水産学会投稿規定

1. 報文の投稿者は本会員個人に限る。但し会員外の共同研究者を含むことは差支えない。
2. 報文は投稿者の原著で他の刊行物に未発表のものに限る。
3. 報文は総て本会に送付し，本会に到着した日を以つて受付月日とし，受付けた原稿は総て編集長の指定する2名の編集理事が回覧し，掲載可と認めたものはそのまま受理する。この場合の受理月日は受付月日とする。編集理事が，そのまま掲載することに疑義をいだいた場合は編集長にその旨報告する。この場合編集長は編集会議で審議し，受理し得ないと認めた場合はその理由を附し，原著者に返却し，訂正を求める。この場合の受理月日は，学会が訂正原稿を受理した月日とする。受理した論文は，その受理月日の順に掲載する。但し，その報文又は報文抄録が印刷費著者負担の場合は，会誌を増頁して掲載する。抄録を希望する場合は本論文をそえて提出すること。
4. 原稿一篇の学会負担印刷費は和文 7,100 円，英文 7,300 円とし，これを超過した場合は著者が負担する。

   参考： 上記学会負担額はおよそ刷上り4頁（表題，200 語の英文抄録を除き，図表の占める紙面を含め約 7000 字相当）
5. 会員が会費又は著者として負担すべき印刷費の支払いを怠るときは，支払いのあるまでその会員の報文の受理又は掲載を見合せることがある。
6. 邦文報告には原則として 200 語以内の英文抄録（題名と著者名とを附記，名前は省略せぬこと，）を添える。
7. 図表には英文の説明をつける。邦文を併用してもよい。但し，図表のトレースを依頼する場合は，著者がその実費を負担すること。(簡単な図で一葉 100 円程度)。
8. 投稿の細目については別に定める注意書に従う。

投稿に関する注意

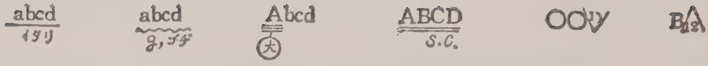
1. 原稿を投稿するときは，本会所定の投稿カード（請求により配付する）に必要事項を記入し，之を原稿に添え本会に提出する。
2. 初校は原則として，著者が校正する（校正は迅速に行う事）。尙文章又は図，表の変更や追加は禁ずる。再校以後は編集部で校正する。
3. 英文抄録，図及び表の表題，説明等の英訳を希望される向はその原案を添えて投稿されたい。但し実費を申し受ける。
4. 別刷りの料金（X円）は次の式によつて算出される通りとする。$X=(1+P)(N-50)$ 円 P：頁数，N：別刷数（50 部を単位とする）従つて 50 部までは頁数に拘わらず無料である。特に表紙をつけることを希望される場合は，著者負担によつてこれをつける。(50 部当り 300 円)
5. 投稿後掲載までの間に著者の連絡先が変つたときには必ず通知されたい。

原稿の書き方

原稿は会誌体裁の統一，誤りの防止，編集印刷の便宜上次の諸規定を守られたい。既出報文との調和その他のために例外を望まれる著者はその都度明記されたい。

1. **邦文原稿**は本会所定の原稿用紙にペンで横書きにし，記述は簡単明瞭にし新かなづかいを用いて難かしい漢字はさける。英文抄録は本文とは別葉にし，その全文を表わす日本文を添付する。
2. **欧文原稿**は厚手の上質紙に2段送りのタイプで打つ。欧文本文以外の欧文個所はペン書きでもよいが**必ず活字体を用いる。**

3. **字体の指定は**
右の如く赤で入れる。



Italic　**Gothic**　CAPITAL　CAP. & SMALL CAP.　うわつき（かたつき）　したつき

4. **表題**　主題・副題は別行に書き各々ピリオド(.) をつけない。第○報の場合はローマ数字 (I，II)にして (——) でつなぎ数字の後に (.) をつける。

5. **著者名**　邦文では連名の時は (・) で連ねる。ローマ字では名の頭を Capital 後は Small, 姓の頭を Capital 後は Small Capital にする。連名の時は (,) で連ね最後の名の前を (and) で連ねる。(&) は用いない。末尾に (.) はつけない。

6. **所属**　表頁の脚註に入れる。報文の本文が日本文の場合は所属名のつぎに (　) で囲んでその英名を入れる。欧文の場合は先に所属の英名を入れ，つぎに (　) で囲んで日本語で著者名と所属名を記入する。所属名は特に英名がない場合はローマ字で書き，郵便が届く程度に所在地名を入れる。

7. **図表**　表題，説明，内容とも英文で書く。必要ならば邦文併用もよい。番号は (**Fig. 1., Table 1.**) とする。番号，表題，説明は図でその下に，表ではその上に入れる。表の細かい説明は下でもよい。邦文併用の時は邦文の番号（第1図，第1表）は省く。図表は必ず本文と別葉にし，本文中に挿入個所を赤で指定する。又本文中に引用する時は (**Fig. 1, Table 1**) を用いる。

8. **附図**　附図は1頁大の図版で (Plate) とし，なるべく篇末に入れる。原図が写真であつても本文中に組込む時は **Fig.** にする。附図の番号はローマ数字（I，II）を用いる。

9. **生物名**　邦文ではカタカナの和名の次に，学名を *Italic* (命名者名は Roman で頭文字を Capital, 後を Small Cap.) で入れ，英文では俗名の次に学名を邦文と同様に入れる。[その間は (,) で切る] これを原則とするが論文により必要がなければ一部又は全部の学名，俗名を略してもよい。学名は (　) で囲まない事。

10. **化学名**　邦文中の外来語の化学名は一般的なものはカタカナを用い，英字を用いねばならない時は Small で入れる。

11. **人名**　まぎれない時は姓のみを記し名と敬称とを省いてもよい。欧名でも姓のみで頭文字は後は Capital, 後は Small capital で書く。

12. **単位及び記号**　単位を表わす文字は英文中では (C., cc., m*l*., kg., m.) の如く (.) をつける。但し (Ω, μ, γ, N, M, pH, 及び方位の N, S, E, W) には (.) をつけない。邦文中ではこれらの (.) はすべて省く。量を代表する記号は (長さ l, 高さ h) の如く *Italic* にする。

13. **邦文本文中の外国語** (横文字の場合) は人名，地名，ドイツ語の名詞等を除き Small で入れる。同一邦文中で同一物名の和洋語の混用はさける。

14. **文献**　本文中の関連個所にうわつきで一貫番号をつけ一括して末尾に集める。番号はアラビア数字 (1,2,3) を用い片カッコ ($^{1)}$, パーレン) で囲み各行の末尾にピリオド (.) をつける。著者名は姓と名とを書き著者名の後はコロン (:) で切る。雑誌名の略し方は慣用法に従う。日本水産学会誌のことは本誌とする。英文雑誌名は *Italic* で書く。雑誌の巻番号は **Gothic** にする。西暦年号は必ず入れる。文献の見出しは (文献，References) とする。同一著者名，最初の著者名は姓を先に書く。同一雑誌名を連記する時は (——) で略してもよい。

文献の書き方について著者の都合で上の指定によらない時は特にその事を付記しておく事。

15. **脚註**　脚註は数字でない記号 (*, **) を用い関係頁の下段に入れ巻末に集めない。

マアナゴの生態学的研究—I.

成長について

伊 佐 良 信

(1959 年 6 月 24 日受理)

ECOLOGICAL STUDY OF THE CONGER EEL *ASTROCONGER MYRIASTER* (BREVOORT) IN THE SETO INLAND SEA—I. ON THE GROWTH

Yoshinobu Isa*

In the Seto Inland Sea the conger eel, *Astroconger myriaster* (Brevoort) is a commercially important species to be caught by small sized trawlers. In the present work, growth of the fish has been studied on the basis of morphometric surveys conducted during 1952~56 for 1,960 individuals from fishing grounds off Marugame and 1,892 off Takuma (Table 1 and Fig. 1).

1) Frequency distribution of the anal length composition and seasonal changes in the modes (Figs. 2 and 3) have suggested that the fish under study consist of two major age groups: the young exploited during August to December and the older staying in the areas over the year. The field data indicated the average growth from summer to summer to be about 50 mm.

2) Relation between total length (L) and anal length (l) of 400 specimens collected in 1956 may be expressed as

$$L = 14.38 + 2.45 l.$$

From the anal length composition obtained at Marugame during 1952~56, the mean anal length of the young and the older groups was separately computed for the coordinate months of the years (Table 3). The results revealed that the annual growth averages 50 mm. in a close agreement with the one determined from the field data. However, the young group from Marugame was found a little different in the growth trend from that of Takuma (Fig. 4). The difference may be partly attributable to the particular topography of Takuma area where the tidal currents from the outer sea join each other and receed to different directions. According to the least square method, the growth of the conger eel in these areas may be formulated as follows:

For the young group occurring during August to December

$$l = 73.143 + 2.150\, a \quad \text{(Marugame)},$$

$$\log l = 1.8327 + 0.1288 \log l \quad \text{(Takuma)};$$

For the older group occurring in early months of the following year

$$l = 110.464 + 1.484\, a \quad \text{(Marugame)},$$

$$l = 105.133 + 1.851\, a \quad \text{(Takuma)},$$

where l is anal length and a is age by ten day period.

3) In the conger eel under report, relation between body weight (w) and anal length (l) is indicated as in Fig. 5 and by a formula

$$\log w = -5.8326 + 3.614 \log l.$$

Assuming that the fish complete their metamorphosis in a year after hatching, it is inferable that the conger eel in the areas are composed of the two-year-old and the three-year-old groups.

* 香川県水産試験場 (Kagawa-pref. Fish. Exp. St.)

緒　　　　言

日本産マアナゴ *Astroconger myriaster* (BREVOORT) は北海道から九州に至る本邦沿岸および朝鮮におよぶ広い水域にわたつて分布[1] しているといわれ，瀬戸内海においては，小型底曳漁獲物の中で，量的にも経済的にも極めて重要な魚種の一つである。

マアナゴに関する研究は余り多くなく，その形態・変態について，内田[1),4)]，岸上[2)] および藤田[3)] 等の報告があり，富山[5)] は周防灘産のマアナゴの食性，全長組成について岡田，鈴木[6),7)] 等は伊勢湾産のものの全長組成とその体重との関係および Condition Factor の地域的変動ならびに耳石の Circulii と全長との関係について報告している。

筆者は '50 年来，水産庁内海区水産研究所より委託された小型底曳資源調査にあたつて，逐年同研究所へ報告した調査資料の中，備讃瀬戸西部で漁獲されたマアナゴについての測定結果を検討し二，三の知見を得たが，一応成長を中心として考察した結果を報告したい。したがつて本報告に関する基礎資料は，すべて内海区水研の委託費によるものであり，同水研に深謝申上げるとともに，魚体測定，図表の作製等に援助をいただいた当場の職員各位に厚くお礼申上げる。なお本文に入るに先立ち公務多端の折柄原稿の御校閲と有益な御助言を頂いた東京水産大学教授久保伊津男博士に衷心より深く感謝申上げる。

材料および方法

調査指定標本船の漁獲物 (1～3 隻分) を原則として毎月 3 回測定し，その中 2 回は根拠地で鮮魚のままの材料を簡易測定 (肛門長および適宜全長，体重の測定)，1 回はホルマリン固定後実験室に持ち帰つた標本について精密測定 (全長，肛門長，頭長‥‥吻端～鰓孔上端，背吻長‥‥吻端～背びれ前端，脊椎骨数および胃内容物の測定) を行なつた。魚体測定は簡易測定では 1 回 30 尾以上，精密測定では 50 尾以上を用いる筈であつたが，漁況や標本船の都合で目標尾数に足りない場合もあり，'56 年の測定数は 5～12 月の間に総数 555 尾 (中 376 尾精密測定) である。このほか '52～'55 年の測定数 (簡易測定) を加えて計 1960 尾 (以上丸亀漁場) が用いられた。なお '52～'54 年まで丸亀と同時に調査された詫間漁場の体長測定総尾数 1892 尾もあわせて検討した。

これらの内訳は Table 1 のとおりである。すなわち，両漁場における毎年月別の体長 (肛門長以下同じ) 組成を相対度数で表わし，これから群生長および漁獲群の年級組成を，年別月別の旬別に同一年級群と思われるものの集団別に体長と尾数を掲げ調査年間を通じての総平均体長をもつてその時期の推定体長としこれによつて成長度を推定し，さらに両者から年令の推定を試みた。ここで '52～'54 年の材料は数人によつて測定されているので個人差，測定誤差が入る可能性があるが，肛門長測定は全長測定に比べ

Table 1. Number of individuals used for this study.

Month	Marugame						Takuma			
	52	53	54	55	56	Total	52	53	54	Total
Aug.	47	64	141	1	80	333		35	28	63
Sep.	55	42	165	86	69	417		42	41	83
Oct.	57	35	41	45	115	293	19	80	71	170
Nov.	45	21	137	105	61	369	122	69	112	303
Dec.	66	13				79	31	101	63	195
Jan.									10	10
Feb.					25*	25		138	{35** 27	200
Mar.								178	92	270
Apr.										
May					64	64		49	206	255
Jun	31	26	70	5	49	181		67	87	154
Jul.		20	61	26	92	199		98	91	188
Total	301	221	615	268	555	1960	172	857	863	1892

*‥‥1957　　**‥‥1955

きわめて容易であるので許容範囲にあるものとしてそのまま使用した。

結果および考察

調査漁場および根拠地は Fig. 1 に示す通りである。



Fig. 1. Fishing grounds of operated by small trawlers for the conger eel.
Fishing grounds in Marugame area
〃 in Takuma area

（1） 肛門長組成による群生長

'52～'54 年の結果については，すでに報告[8] したところであるが，丸亀の分は以後 2 年の結果を含めた体長の相対度数分布は Fig. 2–B に，前 3 ヶ年の詫間漁場の結果は Fig. 2–A のように示される。両図における体長組成の経過から，この水域におけるマアナゴは，毎年 8 月に(稀に 7 月下旬に)始めて漁獲対象群として出現し，翌年の春一般の操業再開時にも，その成長系のものが引き続き漁獲物の主体となるようである。この 5 年間を通じてみた漁獲群の肛門長組成は，当初の '52 年にかなり体長の分布幅が広く，少なくとも三つの年級群組成の存在が推定されたが，'53 年以後は単一年級群が漁獲される場合が多く，二つの年級群は 2, 3 の月にしかみられない。

この現象は小型底曳漁業の漁獲努力なり漁獲強度の増大した結果かもしれない。 Fig. 2 から各月のモードを拾つて示すと Fig. 3 のようになり，8 月に 70 mm 前後で漁獲物として初めて出現した小型のマアナゴは 12 月の一般操業中止時期には 90～100 mm に成育する。冬期間はほとんど成長せず，この成長系と思われる 5 月の漁獲物の主体群のモードは再び 100 mm であつて， 8 月に至つて 120 mm 程度に成長するようである。よつてこれらの漁獲対象群は満 1 年間に約 50 mm の群生長をとげるといえよう。 '56 年の材料による全長組成は Table 2 に示す通りである。毎月のモードは山口県の内海沿岸海域における富山の測定結果[5] と大体一致している。したがつて群生長においては，内海中心部も西端部もまず著しい差がないものと考えられる。なお漁獲群の年級組成においては，備讃瀬戸西部と山口県周防灘とのそれぞれの全長組成の変化から比較すると，備讃瀬戸西部では 4～7 月は越年群（前年の 8 月に初漁獲対象群として出現したもの，以下同じ）の単一年級群組成の場合が多く，体長組成からみても '53 年を除いたほかは例年この経過を

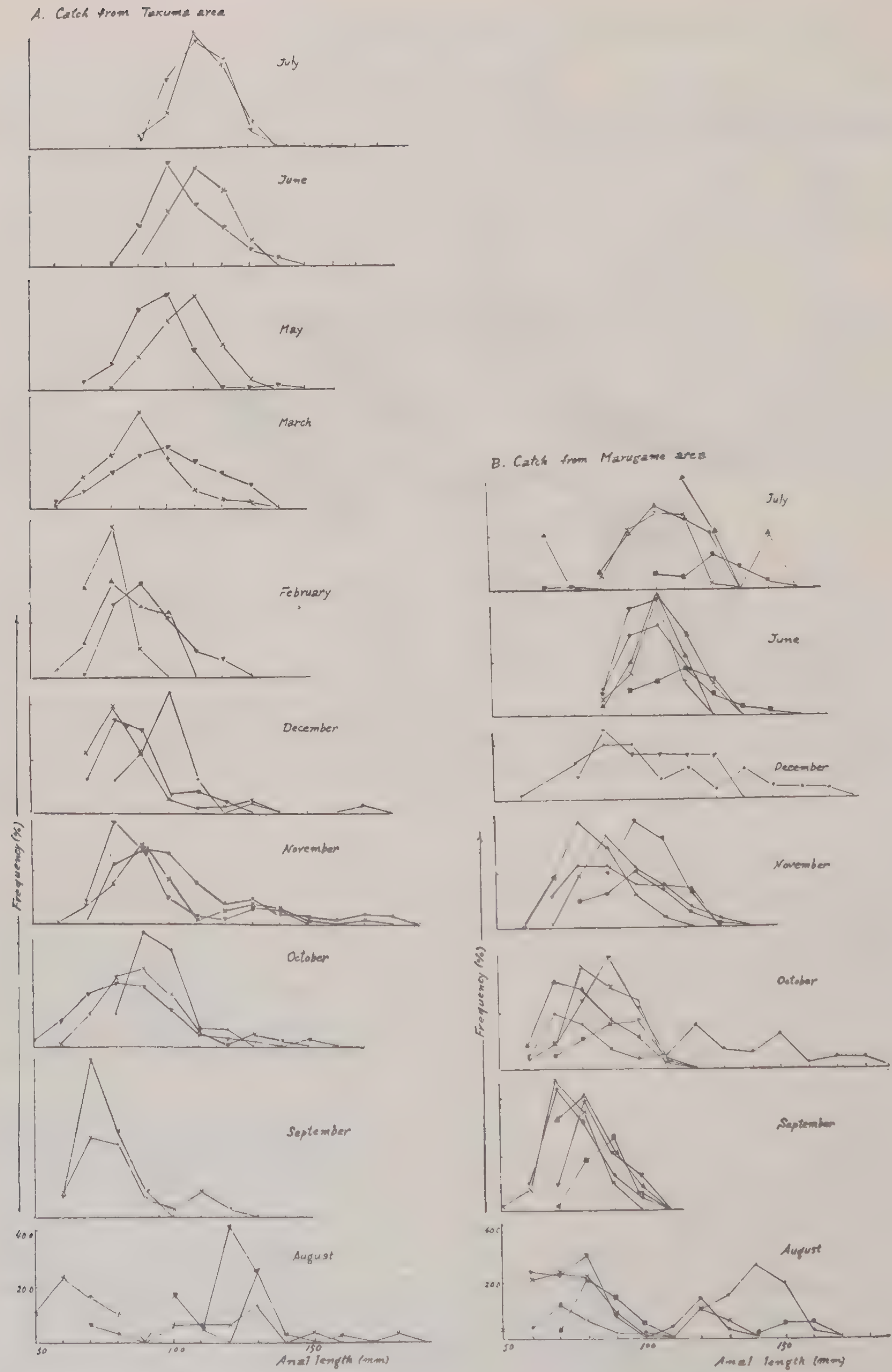


Fig. 2. Frequency distribution of the anal length by month, 1952～56.
●··1952 ▼··1953 ×··1954 ▲··1955 ■··1956

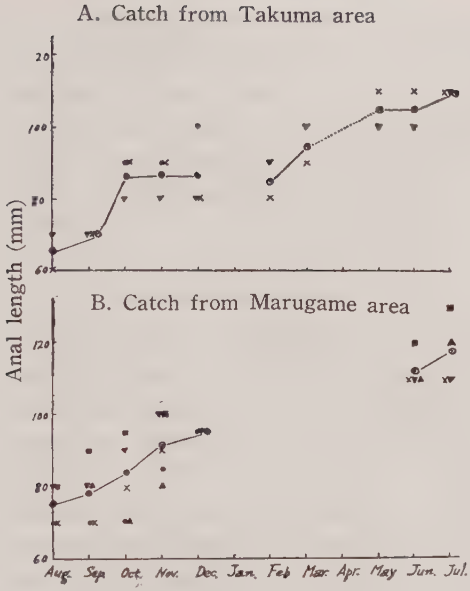


Fig. 3. Seasonal changes of modes in anal length composition.
⦿····Average
For the other marks see the legend of fig. 2.

Table 2. Number of individuals samples at Marugame by total length intervals and month, 1956.

Length class (milimeters)	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.
160～				3		1	
170～				3	1	1	
180～				2		2	
190～				8	1	4	1
200～			1	8	1	11	1
210～		1	1	18	8	13	4
220～		1		10	11	14	4
230～				8	10	12	6
240～		1		3	14	8	4
250～	1	6		3	9	11	3
260～	3	6	3	4	8	13	12
270～	6	9	1		3	6	7
280～	8	11	7		2	2	5
290～	9	17	4		1	2	5
300～	8	17	10			1	4
310～	5	18	6			1	2
320～	5	17	7			2	1
330～	1	13	11				1
340～	2	8	8				1
350～		7	8				
360～		1	16				
370～		6	4				
380～		2	3				
390～		1	2				
400～							
410～							

示しておる。8月になると若年群（その年の 7～8月に始めて漁獲対象群となつたもの，以下同じ）を加えた2群がみられ，9月以後はほとんどこの若年群単一の形となるのに対し，周防灘海域では7月まではほぼ同様な経過ではあるが，2群がみられるのは，1ヶ月おくれた9月に始まり，以後 12 月まで，その2群は大体同じ割合に漁獲されるようである。

しかしここでまず問題になるのは両海域でのそれぞれの標本船の操業水深であつて，マアナゴが水深または底質によつて個体の大きさ別の分布割合が異なるかどうかを明らかにする必要があり，また標本船の漁獲努力や強度により，使用材料の組成もことなることであろうから，この一年の測定結果のみで結論することはできまい。しかし両海域間の漁況の推移はかなり違つており，周防灘で越年群が盛漁期の最多漁獲群となるようであるが，備讃瀬戸では，それが若年群に代つていることから，マアナゴ群の生育環境の地域差によつて，時期別の漁獲群組成の差異を認めることができよう。このことは内海全体から考えても小型のものが内海の浅い（中心）部分から，成長するにしたがつて，より深い（外洋型の深部）部分に移動（分布）することを意味するものと考えられる。

2)　全長と肛門長との関係

1956 年 5～12 月に測定した材料 400 尾から全長（L）と肛門長（l）との関係は，大標本の方法によつて求めると次の式，

$$L = 14.38 + 2.45l \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

のとおりである。

3)　成長度ならびに年令の推定

'52～'56 年の丸亀の材料の体長組成から，8月に始めて出現する若年群と7月までの越年群の二群の体長の総平均値を毎年毎月旬別に計算し Table 3 および **Fig. 4** に示した。すなわち若年群は8月から 12 月まで直線的に成長し越年群は極めてゆるやかな傾斜をもつ直線的に成長するようである。

Table 3. Mean anal length (mm) of the conger eel in coordinate month, 1952～56.

A. Young group

	August			September			October			November			December
	1st decade	2nd decade	3rd decade	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.	1st dec.
Marugame	75.0	77.5	80.3	80.1	81.3	84.5	82.6	92.9	89.7	97.2	101.5	100.5	102.5
Takuma	69.2	—	—	—	79.2	89.4	91.3	92.4	90.9	92.9	93.0	91.7	94.2

B. Adult group

	February			March			May			June			July		
	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.	1st dec.	2nd dec.	3rd dec.
Marugame	—	—	—	—	—	—	114.0	—	113.0	115.5	115.8	118.7	122.8	120.6	121.1
Takuma	99.1	90.2	94.0	103.3	94.1	99.0	103.2	111.6	110.9	114.6	116.2	115.0	115.7	120.5	—

詫間漁場の '52～'54 年の材料による結果は Table 3, Fig. 4-B に示す通りである。ここでも群成長の場合と同じように，冬期はほとんど成長の形跡はみられない。この漁場の若年群の成長を追跡すると曲線的傾向がみられる。これは材料採取の方法およびその数によるものか，あるいは地域的な差異に基づくものか明らかでないが，越年群はここでも直線的な成長型を示し，しかも5月以後の成長速度は丸亀漁場の若年群のそれに近いことと，同一漁場とみられる程ごく隣接した漁場ではあるが，詫間の主漁場が瀬戸内海干満潮の離合点という特殊の地点に相当することからみれば，地域差がないともいいきれない。以上の各成長経過を最小自乗法[10]によつて計算式を求めるとつぎの通りである。

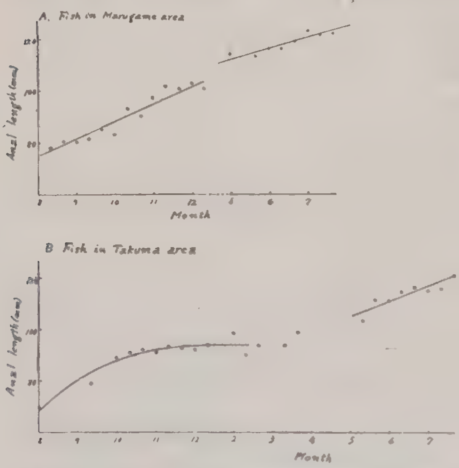


Fig. 4. Growth of the anal length plotted for coordinate months.

若年群

$$l = 73.143 + 2.150a \cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

丸亀

$$\log l = 1.8327 + 0.1288 \log a \cdots\cdots (3)$$

詫間

越年群

$$l = 110.464 + 1.484a \cdots\cdots\cdots\cdots (2')$$

丸亀

$$l = 105.133 + 1.851a \cdots\cdots\cdots\cdots (3')$$

詫間

ただし各式とも l‥‥肛門長，a‥‥年(旬)令

丸亀漁場の材料測定結果からすれば，8月に平均 75 mm で出現したマアナゴは，10 月には 86 mm，12 月には 100 mm 内外となつて越冬し，翌年5月に 110 mm，7月に 125 mm になるようである。また詫間漁場の材料では8月に 65 mm，10 月には 90 mm，平均 95 mm で越冬し翌年5月には 105 mm，7月に 120 mm で，丸亀の材料よりも 5 mm 位低い値であるが，これは材料数処理法によるのであつて，成長度は両者同様とみて差支えないものと考える。連結採取法[10]によると，Fig. 2 から，漁獲対象群が 2～3 つの年級群から構成されていることは容易に観察できる。まず8月に初出現する若年群の年令を検討してみよう。内田[4]によると，マアナゴのレプトの変態期は，4～6 月で水温 15°C で約 20 日間で変態を完了して約 83 mm（全長と思われる）になるとし，また藤田[3]は飼育変態させたマアナゴ稚魚の数部位の長さを測定し体長（全長と思われる）は尾端から肛門までの長さの 1.5 倍であるとしている。今内田が飼育変態させた約 83 mm

のマアナゴの肛門長を式 (1) によつて計算すると 28mm となり，藤田の方法での測定結果と比較すると両者の実験結果の一致がこの (1) 式によつてよく証明される。

また筆者は '56 年 6 月 18 日の丸亀産の材料の胃内容物中に全長約 90〜95mm と推定される（魚体後半分消化）の稚アナゴをみたが，これは内田の実験結果からすると時期的に変態完了後十数日から 1 ケ月経過したものと考えられる。さらに合田[11] も '57 年 7 月 1 日丸亀漁場の材料の胃内容物中に全長 95mm，肛門長 25.5mm の完全個体の稚アナゴを発見しており，いずれも変態完了後あまり時日を経過していない稚アナゴであることは明らかである。この稚アナゴはかりに内田の実験結果の 83mm を当初の全長にとれば，6 月中旬〜7 月始めには，変態してから，約 10mm 内外の成長をとげたことになるが，肛門長は前述の 83mm の稚アナゴの計算肛門長より 2.5mm 小さくなつている。変態完了後数ケ月間の成長については明らかにされていないが，この時期において，合田が発見した天然の稚アナゴの全長は藤田の方法では肛門より後半の長さの約 1.3 倍であつて，倍率が幾分小さいが，これは人工飼育と天然発育による差異とみて差支えないものと思われる。いずれにしても 6 月中旬から 7 月始めにかけて発見された前 2 例の全長 90〜95mm（体長 25.5〜28.0mm）の稚アナゴは 1 ケ月後の 8 月に若年群（平均体長 75mm）に加入するものではなくその翌年 8 月に漁業対象群に添加されるものと考えるのが妥当であろう。したがつて変態した稚アナゴを当才とすれば，若年群が 1 年級，越年群が 2 年級であつて，3 年級群の混獲がわずかにみられ，備讃瀬戸西部水域で操業される小型底曳網は 3 年級魚までしか漁獲能力がないことになる。ところが松井[12]は日本産ウナギは産卵後約 1 ケ年以内でほぼ変態を完了したシラス鰻として溯河するとしており，もしマアナゴがウナギと同じように孵化変態するとし，産卵発生時から年令を算定すれば，前述の若年群は 2 才，以下同じく 3 才，4 才ということになる。なお内田[1] もマアナゴのレプトは 12 月からみられるというから，やはりウナギと大体同様な時間を経過してから変態するのであろうということが容易に推察されよう。したがつて若年群は 2 才，越年群は 3 才で備讃瀬戸における小型底曳漁獲可能の最高年魚は 4 才魚だということになろう。

4) 肛門長と体重との関係

小型底曳漁獲物が大体二つの年級群からなることは明らかで 8〜12 月の群と 5〜7 月の群の両季節群にわけて，5 月および 11 月の採取材料測定数の 5 分の 2 を無作為抽出して，それぞれ，関係式の常数を算定し，その平均値で導かれた肛門長と体重との関係式は

$$\log W = -5.8326 + 3.6140 \log l \quad \cdots\cdots (4')$$

である。ここに W は体重，l は肛門長である。

要　　約

備讃瀬戸の小型底曳漁獲物測定結果からマアナゴの成長について検討した。

1) 備讃瀬戸で小型底曳網で漁獲されるマアゴは大体二つの年級群からなり，8 月に若年群がとれ始め，その成長系が翌年 9 月，ときには 12 月まで漁獲される。その群成長は年間約 50mm で平均成長とよく一致する。

2) 全長組成からこの水域のものと，山口県周防灘産のものとを比較すると，群成長においてはほとんど差はないが，時期的に漁獲物の年級組成の変化に多少の違いがみられるのはこの魚の生育環境の地域差によるものであろう。

3) 全長 (L)，肛門長 (l) との関係は $L = 14.38 + 2.45l$ である。

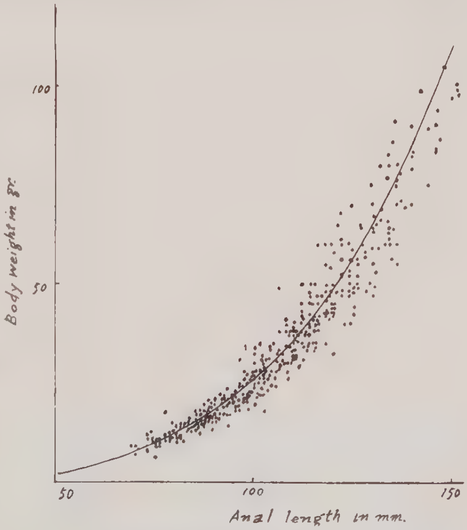


Fig. 5. Relationship between body weight and anal length.

4) 同じ備讃瀬戸水域内で若年群，越年群の成長経過が詫間と丸亀とで若干相違がみられるが，これは前者の主漁場が内海潮流の離合点に相当する特殊な生育環境条件によるものであろう。各漁場の成長経過は若年群では，

$$l = 73.143 + 2.150\,a \quad (丸亀)$$

$$\log l = 1.8327 + 0.1288 \log a \quad (詫間)$$

越年群では，

$$l = 110.464 + 1.484\,a \quad (丸亀)$$

$$l = 105.133 + 1.851\,a \quad (詫間)$$

である。l, a はそれぞれ，肛門長，年（旬）令を示す。

5) マアナゴが産卵されてから変態完了まで満1年を要するとすれば，備讃瀬戸における小型底曳網漁業の漁獲対象群は夏から冬にかけては2年級，春から夏にかけては3年級のものが主体で，小型底曳網による漁獲可能の最高年魚は4年級であることが推定される。

6) 測定した2年級と3年級を含めたマアナゴの，体重と肛門長との関係は Fig. 5，次式の通りである。

$$\log W = -5.8326 + 3.614 \log l$$

文　献

1) 岡田彌一郎・内田恵太郎・松原喜代松： 日本産魚類図説，三省堂，東京 (1935).
2) 岸上鎌吉： 動物学雑誌，**4** (43)，202 (1892).
3) 藤田政勝： 動物学雑誌，**18** (208)，16 (1906).
4) 内田恵太郎： 動物学雑誌，**44** (519・520)，24 (1932).
5) 富山　昭： 山口県内海水産試験場研究業績，**8** (1)，53～57 (1956).
6) Yaichiro OKADA, Kiyoshi SUZUKI: Report of the Faculty of Fisheries, Pref. Univ. Mie, **2** (2), 217～226 (1956).
7) ——， ： **3** (1), 17～25 (1958).
8) 伊佐良信： 第七回内海ブロック会議資料，(謄写刷，香川水試)，(1956).
9) 畑村又吉外三名（共訳）： スネデカー統計的方法(上)，岩波書店，東京 (1954).
10) 久保伊津男・吉原友吉： 水産資源学，共立出版株式会社，東京 (1957).
11) 合田　理： 昭和 32 年度小型底引資源調査資料，香川水試，(1958).
12) 松井　魁： 農林省水産講習所研究報告，**2** (2)，124～129 (1952).

天草増産に関する基礎的研究—V.
投石場におけるマクサ (*Gelidium amansii* Lmx.) の 嚢果体と四分胞子体の出現比率について

山 崎 浩・大 須 賀 穂 作

(1959 年 8 月 26 日受理)

STUDIES ON THE PROPAGATION OF GELIDIACEOUS ALGAE—V. ON THE RATIO CYSTOCARPOPHYTE TO TETRASPOROPHYTE IN *GELIDIUM AMANSII* ON THE ARTIFICIAL STONE-BED.

Hiroshi Yamasaki and Hosaku Osuga*

Some investigators have already reported that the ratio between the sexual and the asexual individuals, i. e. the cystocarpophytes and tetrasporophytes of *Gelidium amansii*, is much unbalanced on the natural rocks. From these observations they suggested that the occurrence of the alternation in generations of the life cycle of the present plant may be irregular.

According to our investigations on the individuals of the *G. amansii* having grown on the artificial stone-bed, it was found that the female plants (cystocarpophyte) appear in greater number than the tetrasporophytes during one or two years after settling the bed (33～100%, mean value 64%. Fig. 1 and Table 1), while later they decreased gradually to 20～35% in three or four years after settling the bed, and finally, later than four years, the ratio carposporophyte to tetrasporophyte were about 18 (4～44): 57 (19～86), nearly the same as those on the natural rocks (Tables 1 and 2).

Besides, it was also observed that among the new fronds sprouted out on the natural rocks after recovery from the "Isoyake Damage" (desert shore or burned shore) the number of cystocarpophyte and tetrasporophyte are almost equal.

投石についての研究は古くから，おもに各県の水産試験場で行われてきた。その目的は投石実施の適期，岩質による差異，形状，坪当りの投石適量，着生したテングサの成長などを試験することにあつた。一方，テングサ族の生活史に関する研究はほとんど行われていず，世代の交番については多大の疑義がもたれている。2, 3 の研究者[1),2),3)] はマクサについて，天然における果胞子体と四分胞子体の出現比が極めて unballance であることを認め，このことから世交の交番が不規則に行なわれているのではないかと考えられるようになつてきた。高松[4)] はオオブサ (*Gelidium pacificum* Okam.) についてその性比をしらべ，世代交番が正しく行われていることを主張した。しかしこれらについては培養による実験的な証明も，細胞学的な検討もなされていない。また投石に生ずるテングサのうち両性代でどちらが多くでるかということについての研究は少く，僅かに三重水試[5)] で投石二年後のものについて，着生したマクサとコヒラの性比が調査されている。

著者らはさきに静岡県下で実施してきた投石について，年次毎の生産量の変化を各漁場別に詳細に調べ，また経済的効果についても考察を加えてさた[6)]。ここではこの生産量調査と併行して行つてきた投石場に成育したマクサについて，果胞子体と四分胞子体の出現比の径年変化についての結果を報告し，生活史について考察を加えてみた。

* 静岡県水産試験場伊豆分場 (Izu Branch, Shizuoka Pref. Fish. Exper. St., Shimoda).

はじめに，始終御指導を受け，御校閲を賜つた東京大学農学部新崎盛敏博士に衷心感謝するとともに，この研究の一部は農林省応用科学研究費「沿岸浅海資源の増殖を目的とする環境改善方法の生産効果見積りに関する研究」によつたもので研究の機会を与えられた主任研究者東京大学農学部大島泰雄教授に深甚な謝意を表する。なおこの発表の機会を与えられた静岡県水産試験場安藤精治場長，同五十嵐正治伊豆分場長，この研究に協力された伊豆分場職員各位に深謝する。

調査方法および結果

伊豆半島の各所で昭和 28 年以降実施してきた投石について，おもに漁期前の 4 月にそれぞれの投石場内で 1 m^2 内のテングサ（マクサ）を採取し，果胞子体と四分胞子体の出現比を株数で調べ，投石の年次による変化について検討した。また前に報[7]じたごとく，南伊豆地区では昭和 27，28 年から著しい磯焼現象を起し，このため地先のテングサが一時皆無の状態となつていたが昨年から次第に恢復しはじめてきている。これら恢復しつつある天然礁ではじめて生えてきたマクサの性比を調べた。

投石における結果を Table 1，Fig. 1 にしめした。非常に興味深いことは果胞子体の出現率が年次によつて著しく変化してきていることである。投石後 1～2 年後のものでは果胞子体が四分胞子体に比べてかなり多数あり，成熟体の半数以上が果胞子体である。これも 3 年後になると次第に少くなり，さらに 4 年後以後ではほぼ天然礁におけると変りなくなり，次第に四分胞子体が増えてくる。

昭和 32 年 5 月に南伊豆町大瀬で行つた岩礁爆破の場所は 1 年後の 4 月には平均草長 11.5 cm（最大 18.0 cm）となり四分胞子体はほとんどなく，果胞子体のみで多数見られた。また河津町菖蒲沢地先の昭和 32 年 3 月実施の投石を 1 年 8 カ月後の 33 年 11 月に調べたところ成熟体 61 株のうち果胞子体は 25 株で 41% をしめていた。同じ年度の投石で，仁科の結果は 1 年 8 カ月後の秋には成熟葉体 50 株のうち果胞子 26 株で約半数をしめていた。 Fig. 1 にしめした如く，投石 2 年後における果胞子体出現率はかなり高いのであるが，投石場における性比とその投石場のごく近くの天然礁での性比を比較してみると，昭和 32 年 3 月実施の仁科での投石を 2 年後に調べた結果では，投石場での成熟体のうち 66% は果胞子体であつたのに，同時に行つた近くの天然礁では果胞子体が 11% で，他はほとんど四分胞子体であつた。妻良での同年度の投石でも同じく 2 年後には果胞子体は 80%

Table 1. Changes of the constitution of *Gelidium amansii* grown up on the stone bed in a few years after the bed settled into the sea.

Place	Time after stone settling bed	Asexual sporophyte (T)	Female (C)	Not identified*	$C/C+T$
	month	%	%	%	%
Ose	11	0	47	53	100
Shirahama	12	0	29	71	100
Nishina	15	15	66	9	71
Mera	15	5	55	40	90
Nishina	18	37	41	21	52
Shiyobuzawa	21	52	36	11	41
Nishina	20	37	41	21	52
Shirahama	24	31	15	52	33
Tago	24	9	18	72	66
Nishina	24	14	29	55	88
Mera	24	11	44	44	80
Nawagi	25	35	41	24	54
〃	33	52	48	0	47
Yatu	33	43	24	31	36
Sotoura	36	47	43	10	48
Tikuma	36	70	20	10	22
Mera	37	50	33	21	36
Kumomi	36	6	44	50	87
Sotoura	36	72	16	12	18
Nawagi	36	60	23	17	28
Tikuma	36	57	17	31	25
Shirahama	36	33	30	36	48
〃	46	19	4	76	20
Tikuma	49	36	44	20	55
Yatu	49	65	30	4	31
Nawagi	49	43	18	39	30
Sotoura	49	86	6	8	7
Minato	61	66	21	12	24
Yatu	61	81	15	3	15

* Inmature plants.

をしめしていたが，近くの天然礁のものでは 14% しか果胞子体はなかつた。しかしこの投石場から約 300 m 程隔つたところに昭和 29 年 3 月に実施した投石があるが，ここでは 5 年後の同時に行つた調査では果胞子体はほとんど見られなかつた。また雲見における例を見ると，昭和 31 年 5 月実施の投石を 3 年後に調べたところ，成熟葉体の 87% が果胞子体で，ごく僅かが四分胞子体であつた。しかし天然礁のものでは 8% が果胞子体で他はいずれも四分胞子体であつた。

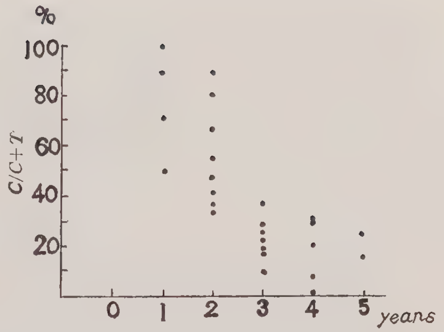


Fig. 1. Ratio of carposporophyte to the mature plants of *Gelidium amansii* sprouted out on the stone-bed.
C: ♀, *T*: tetrasporophyte

以上の如く，投石年次の若いものではいずれの投石場所も果胞子体の出現率が多く，周辺の天然礁のものと比較して，果胞子体の出現比は著しく異つている。

投石後 3 年目になると次第にその性比が変り，四分胞子体が多くなつてくる。Table 1 にしめすごとく，大体成熟葉体の 20～35% が果胞子体であるが，例外的なものとして外浦と白浜の例をあげることができる。外浦の例では昭和 30 年 3 月の投石を 33 年 3 月にしらべたところ，平均草長 19.4 cm (最大 25.0 cm) で，果胞子体がかなり多く，成熟体のうち 47% は果胞子体であつた。また白浜の場合では 31 年 3 月の投石で 3 年後には平均草長 19.1 cm (最大 30.0 cm) でここもまた果胞子体が多く，48% もしめていた。しかしこれらの平均草長は 3 年後の投石場における平均草長 (14.6 cm) より著しく長く，したがつて前年度に採取されなかつたものかも知れない。投石 4 年目以後になると次第に天然礁の性比に近づいてくるが，それでもまだ天然礁におけるよりは果胞子体の出現率が多い。

天然岩礁で磯焼によつてテングサその他の海藻が枯死し，数年間テングサが全く見られなかつた石廊崎，大瀬地区は昨年から次第に恢復しつつあるが，この場合における果胞子体の出現率をしらべてみた。昭和 34 年 3 月の調査では大瀬で全藻体の 33%，石廊崎で 21% が果胞子体であつた。これを同時期の伊豆全般にわたつて調査した資料と比較すると Table 2 のごとく，他所のものより 3～5 倍も果胞子体出現率が多い。さらに 34 年 7 月にしらべた結果では石廊崎で調査株数 147 株のうち 43% が果胞子体で，47% が四分胞子体で従来いわれているよりはるかに多い果胞子体数であつた。また大瀬では 47% が果胞子体で四分胞子体の 40% より多い出現率をしめしていた。以上のごとく，新しく胞子から出芽した場合には果胞子体が多く出現している。

Table 2. Changes of the constitution of *Gelidium amansii* on the natural rock.

Place	Asexual sporophyte (*T*)	Female (*C*)	Inmature	*C*/*C*+*T*
	%	%	%	%
Nishina	57	7	35	11
Kumomi	50	5	45	9
Mera	35	5	58	12
Sotoura	86	6	8	6
Inatori	80	8	12	9
Ose	50	33	17	39
Irozaki	51	21	27	29

March～April 1959.

論　　議

須藤[8] は天然において，四分胞子体が多いことについて 2 つの項目をあげて考察を加えている。しかしこれらについては未だ研究が充分行われていないと述べている。その 1 項目として，四分胞子形成時に減数分裂を必ずしも行わず，減数分裂をしなかつたものは二分胞子を生ずるためではないかと述べている。しかし著者らは外観で二分胞子と思われるものは未だ見ていないし須藤もこの点についての確証はないらしい。第 2 項目として，果胞子体からの発芽体が四分胞子から発生した X 体に比べて生活力が強く，生存率が大きいのではないかと推察している。著者らの結果からみると，投石実施後から 2 年目までは果胞子体が著しく多く，投石時期 (3～4 月) の天然礁の草では四分胞子体が多い。したがつてこの場合，四分胞子の着生によつ

て果胞子体が多く生ずるものと考えた方が妥当ではなかろうか。また投石も4年以後になると次第に四分胞子体の出現率が多くなり，天然の場合と同率になつてきている。以上の点から考えると天然における両性代出現のアンバランスが生ずる原因として，匍匐枝の繁殖力に差異があるのではないかと考える。すなわち無性世代の匍匐枝が有性世代のそれよりかなり繁殖力が強いのではないだらうか。またもし世代の交番が規則的に行なわれているものとすれば天然におけるマクサの繁殖は胞子によるよりも匍匐枝による繁殖の方がはるかに大きい役割を果しているとも考えられる。この点はさらに今後の研究に俟ちたい。投石に生じたマクサに果胞子体が多いことについてはさきに三重水試で投石2年目のマクサで4例中2例は果胞子体の方が多く，1例は同数，1例は果胞子体が少ないことを報じている。また井上[9]は神奈川県城ヶ島で投石3年目のものについて調査し，全体の3割が果胞子体で，天然礁の場合より多いことを認めている。

要　　約

伊豆半島で実施されている投石について，発生したマクサの性比と天然礁で磯焼の恢復後における嚢果体との四分胞子体の比率をしらべた。

1)　投石場における果胞子体の出現率は従来の天然礁における調査結果と著しく異なり，投石実施後1～2年目では成熟葉体のうち約 40% 以上が果胞子体である。しかし3年以後になると四分胞子体が次第に多くなり，天然の割合に近づいてくる。

2)　天然礁で磯焼によつてテングサがほとんど枯死し，その後新らしい葉体が生じた場合も果胞子体が従来いわれているより多く，四分胞子体とほぼ同数のものが発生してくる。

参 考 文 献

1)　殖田三郎：　日水会誌，Vol. 5, No. 3, 1936.
2)　高山活夫：　水産研究誌，Vol. 34, No. 7, 1939.
3)　木下虎一郎・渋谷三五郎：　水産研究誌，Vol. 36, No. 4, 1941.
4)　高松正彦：　資源研彙報，No. 6, 1946.
5)　三重水試：　浅海増殖事業効果調査報告，1954, '55.
6)　山崎　浩・大須賀穂作・稲葉繁雄：　静岡水試伊豆分研報，No. 5, 1958.
7)　山崎　浩・大須賀穂作：　静岡水試伊豆分研報，No. 2, 1958.
8)　須藤俊造：　水産増殖叢書，No. 8, 1954.
9)　井上正昭：　未発表.

ワカメの生態に関する研究—IV.

着生胞子，配偶体，芽胞体におよぼす露出の影響について

斎藤雄之助

(1959年9月28日受理)

AN ECOLOGICAL STUDY OF *UNDARIA PINNATIFIDA* SUR.—IV. ON THE INFLUENCE OF DESICCATION UPON THE RESTING ZOOSPORES, THE GAMETOPHYTES AND THE YOUNG SPOROPHYTES.

Yunosuke SAITO*

For the purpose to test its ability to stand to desiccation, the resting zoospores, the gametophytes of various growing stages, and the young sporophytes of *Undaria pinnatifida* were respectively exposed to the air of various humidity (45, 60.7, 84 and 100%) for various duration (15, 30, 60, 150 and 180 min.) at different air temperature.

After the necessary treatment they were immersed again into the normal sea water and then cultured for two or four days when their vitality or survival rate, growth rate and condition of health were examined and estimated under microscopical observations.

The results obtained were summarized as follows:

(1) When they were well dried in the air the resting zoospores, all cells of the gametophytes and the young sporophytes were shrivelled and died with the appearance like 'plasmolysis' in 5~6 minutes without regard to temperature or humidity of the atmosphere.

(2) The resting zoospores were more sensitive to desiccation than gametophytes and the young sporophytes (Table 1, 2). In the case of gametophytes, those which were growing actively were more sensitive than those in resting stage (Table 3-A, B).

(3) The resting zoospores, the gametophytes and the sporophytes could alive in the air of 100% humidity for long time, but in the air of lower humidity than 70.4% the resting zoospores were fatally affected in about 30 minutes and the gametophytes and the young sporophytes were affected in respectively 1 and 3 hours (Table 1~4).

However the time which needs for desiccation of the materials varied with the temperature, that is to say, the temperature were higher, the time were shorter. Besides, the time varied whether they were cultured purely or not, i.e. it took much times when the glass slides were contaminated with other organisms such as diatoms etc.

近年，ワカメ増殖の目的を一層効果的ならしめるため胞子付けした石材の投入，胞子付け網の岩礁への沈設，遠い処からの種苗移殖などが盛んに行なわれるようになつた。ところで，これらの作業に当つては操作中，着生したワカメの胞子，配偶体，芽胞体が露出して，乾燥することがある。そこでワカメの着生胞子，配偶体，芽胞体が乾燥によつて受ける影響の如何を明らかにすることは，これらの技術を一層安全確実にするために重要な点であると考えられる。

着生直後のワカメ胞子の乾燥による影響については，既に愛知県水試尾張分場の報告[1]があるが，著者は温度と湿度条件を明らかにして，ワカメの着生胞子，配偶体，芽胞体の乾燥によつて受ける影響を実験したので，今までに得られた二，三の結果について報告する。

本文に入るに先立ち，終始御指導下さつた東大助教授新崎盛敏，種々御助言下さつた東海区水研須藤俊造

* 東京大学農学部附属水産実験所 (Fish. Lab. Fac. Agr. Tokyo Univ., Shimmaiko, Aichi Pref., Japan).

の両氏に深甚なる感謝の意を表する。

実　験　方　法

1958 年 6 月，1959 年 4 月に愛知県知多半島豊浜町地先および常滑市地先より採集したワカメより蔭干し法により放出させた游走子をスライドガラスに着生させ，着生直後，またはこれを培養して配偶体，芽胞体の発生をみた後，随時にスライドを水中よりとり出して振つて水切りし，裏面は吸取紙で拭つて水を去つた後これを硫酸を用いて湿度を一定させた desiccator 内に入れて，気中に露出した。これを一定時間後に desiccator よりとり出して，成可く速やかに検鏡して生死判断を行ない，海水中にうつし，さらに 2 日～または数日後に検鏡して，露出させないで培養した対照と比較した。実験中，普通 desiccator は直射日光を避けた，日中で大体 1,000 lux の明るさのところにおき，また直射日光の影響を見るためには，直射日光を受ける（窓ガラス，および desiccator のガラスを通して）10,000 lux 以上の明るさのところにおいた。

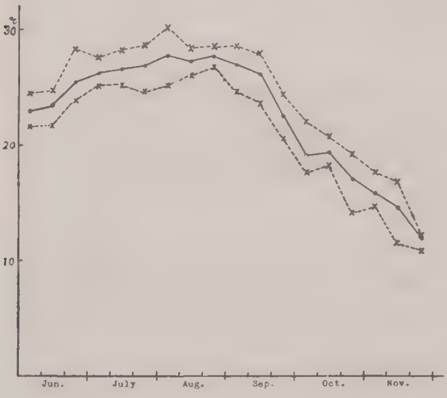


Fig. 1. Water temperature of culture vessel. (1958)
●——● average in each decade.
×・・・・× max. and min. in each decade.

乾燥の影響を表わすには海水中に移してからの発芽，生長，生残の割合の相違をもつてしたが，着生胞子，配偶体では 10×12，芽胞体では 4×12 の顕微鏡 10 視野の平均値を用いた。また，実験期間中の室内気温，水温（午前 10 時測定）は Fig. 1 のごとくであつた。

実　験　結　果

1. 着生直後の胞子の受ける影響

胞子海水をスライドを底に敷いた容器中に入れ，1 時間後にスライドをとり出して胞子の着生を確認し，数回水洗後，前記のごとく水切りして湿度がそれぞれちがう desiccator 中に入れ，一定時間後海水に移し 2 日後または 4 日後に検鏡した。その結果は Table 1–A, B に示した。発芽，生長を表わすには，球状となつたままで発芽管を出していないものを着生胞子（Sp.），発芽管を出して亜鈴形となつたものを亜鈴形配偶体（D. B. G.），発芽管の先端に新生細胞が形成されたときは細胞数 1 の配偶体（C. N. 1）として区別して測定した。また，生死の判別は細胞が褪色して黄緑色，乃至無色となつたものは死んだものと判断した。

水切り後 desiccator に入れておくとスライド表面の水分は，湿度に応じて遅速はあるが，その縁の方から次第に蒸発してなくなるが，飽和蒸気中（湿度 100%）では数時間位では水分の変化は全く見られない。露出後 15 分では，湿度 84.0% のものはスライドの縁が全面積の 1/8 位に当る程度，70.4% では，84.0% のものと同じ位，60.7% では 1/6 位，45.0% では 1/4 位，また 30 分ではそれぞれ 1/4, 1/4, 1/3, 1/2 位に当る面積が水分をうしなつて，スライドは乾燥したように見えた。実験した湿度の範囲では，同じ湿度での温度によるスライド表面の乾燥速度に相違が見られなかつた。

着生胞子の受けた影響は表に示したごとく，湿度 100% では影響は少ないが，84.0% で急に影響が現われ，以下 70.4%，60.7%，45.0% では，いずれも影響が現われているが，45.0% で 15 分間，70.4%，60.7%，45.0% で 30 分間の露出ではその影響も甚しかつた。なお，同じ気温では湿度の低い程，また同じ湿度では気温の高い程，また海水にうつしたときの海水水温の高い程，また露出時間の長い程，乾燥の影響は大きく現われ，胞子は死んだり，発芽しなかつたり，または後の生長がおくれた。しかし，いずれの場合もスライド全面一様に影響を受けたのではなく，スライドの部分によつて影響され方が甚だしく異なり，完全に乾燥した部分は胞子は死滅し，水分の残つた部分の胞子は全く影響がないなど，部分的に異つていた。

Table 1–A. Effect of exposure to the air of various humidity upon the resting zoospores of *Undaria pinnatifida.*

Humidity	Time of exp.	Start	Germination rate				Survival rate	
			after 2 days		after 4 days		start	after 4 days
		Sp.	Sp.	D.B. G.	C.N. 1	2		
		%	%	%	%	%	%	%
Contl.	0	100	8.6	91.4	96.7	3.3	100	100
100 %	15 min. 30 min.	100	32.6 24.8	67.4 75.2	97.5 97.8	2.5 2.2	100 100	100 100
84.0	15 〃 30 〃	100	61.9 87.2	38.1 12.8	100 100	0 0	100 100	37.8 31.7
70.4	15 〃 30 〃	100	65.9 100	34.1 0	98.2	1.8	100 100	32.2 0
60.7	15 〃 30 〃	100	84.0 100	16.0 0	100	0	100 100	38.0 0
45.0	15 〃 30 〃	100	71.7 100	28.3 0	100	0	100 100	28.0 0

Zoospores were shed.	at 10: 45 a.m.	Apr. 15. 1959.	
Desiccation	Apr. 15.		
Time	11: 45	12: 00	12: 15
Air temp.	15.4°C.	16.2	16.2
Water temp.	14.0°C.	14.3	14.5

Sp.····resting zoospore (round type).
D.B. G.····dumb bell typed germling.
C.N. ····cellnumber of gametophyte.

Table 1–B. Effect of exposure to the air of various humidity upon the resting zoospores of *U. pinnatifida.*

Humidity	Time of exp.	Start	Germination rate				Survival rate	
			after 2 days		after 4 days		start	after 4 days
		Sp.	Sp.	D.B. G.	C.N. 1	2		
			%	%	%	%	%	%
Contl.	0	100	24.6	75.6	81.7	18.3	100	80.7
100 %	15 min. 30 min.	100	32.1 4.9	67.9 95.1	71.8 73.1	28.2 26.9	100 100	74.5 100
84.0	15 〃 30 〃	100	72.6 65.2	27.4 34.8	61.7 74.4	38.3 25.6	100 100	45.2 33.9
70.4	15 〃 30 〃	100	63.4 88.6	36.6 11.4	79.4 51.8	20.6 48.2	100 100	34.3 3.5
60.7	15 〃 30 〃	100	45.2 95.9	54.8 4.1	77.6 100	22.4 0	100 100	35.1 1.6
45.0	15 〃 30 〃	100	94.9 87.0	5.1 13.0	83.8 79.1	16.2 20.9	100 100	4.8 1.7

Zoospores were shed.	at 11: 40 a.m.	June 17. 1958.	
Desiccation	June 17.		
Time	12: 45	13: 00	13: 15
Air temp.	24.7°C.	—	24.7
Water temp.	23.9°C.	19.9	19.9

2, 配偶体の受ける影響

游走子の着生後 3, 4 日培養して亜鈴形に発芽した配偶体，および約 1 ケ月培養して 5, 6～12, 13 細胞に成長した配偶体などについて，**1** と同様に実験した。また 5, 6～12, 13 細胞に成長した配偶体については，水道水にて冷却しつつ低水温 (19.9～21.6°C) で培養して，休眠に入つていないものと，室内水温 (23.9～

Table 2–A. Effect of exposure upon the gametophytes cultured for 3 days.

Humidity	Time of exp.	Germination rate: start		after 2 days		after 4 days			Survival rate: start	after 2 days	after 4 days
		Sp.	D.B.G.	C.N. 1	2	C.N. 1	2	3			
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Contl.	0	19.3	80.7	89.3	10.7	13.0	40.7	46.3	100	100	98.6
100 %	15 min.	19.3	80.7	90.2	9.8	5.4	49.3	45.3	100	100	96.8
	30 min.			88.1	11.9	8.0	45.5	46.5	100	83.5	75.8
84.0	15 〃	19.3	80.7	86.1	13.9	1.5	38.4	60.1	100	71.3	69.6
	30 〃			81.3	18.7	2.0	42.9	55.1	100	55.4	50.3
70.4	15 〃	19.3	80.7	85.2	14.8				100	64.7	
	30 〃			91.3	8.7				100	33.3	
60.7	15 〃	19.3	80.7	85.7	14.3				100	50.7	
	30 〃			79.0	21.0				100	20.4	
45.0	15 〃	19.3	80.7	84.2	15.8				100	53.5	
	30 〃			87.5	12.5				100	5.7	

Zoospores were shed.	Apr. 15. 1959.		
Desiccation	Apr. 18.		
Time	10: 10	10: 25	10: 40
Air temp.	15.7°C.	—	15.7
Water temp.	15.6°C.	15.0	15.0

Table 2–B. Effect of exposure upon the gametophytes, which were cultured for 4 days.

Humidity	Time of exp.	Germination rate: start		after 2 days		after 4 days			Survival rate: start	after 2 days	after 4 days
		C.N. 1	2	C.N. 1	2	C.N. 1	2	3			
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Contl.	0	61.1	38.9	60.9	39.1	28.3	51.7	20.0	100	100	100
100 %	15 min.	61.1	38·9	73.0	27.0	10.9	80.9	8.2	100	100	100
	30 min.			61.2	38.8	1.1	91.0	7.9	100	79.8	77.2
84.0	15 〃	61.1	38.9	52.6	47.4	4.8	85.2	10.0	100	34.8	23.7
	30 〃			71.9	28.1	12.5	76.1	11.4	100	30.4	20.6
70.4	15 〃	61.1	38.9	56.3	43.7	16.7	69.8	13.5	100	42.8	36.9
	30 〃			87.0	13.0	4.6	73.0	22.4	100	25.8	25.8
60.7	15 〃	61.1	38.9	63.8	36.2	5.5	80.1	14.4	100	35.3	28.5
	30 〃			86.1	13.9	0	100	0	100	22.5	20.3
45.0	15 〃	61.1	38.9	65.4	34.6	5.0	82.7	12.3	100	36.0	19.3
	30 〃			100	0	0	0	0	100	2.3	0

Zoospores were shed.	June 17. 1958.		
Desiccation	June 21.		
Time	9: 45	10: 00	10: 15
Air temp.	24.6°C.	—	24.6
Water temp.	23.9°C.	—	23.9

26.8°C 位）で培養して細胞が球状となり，細胞膜がやや肥厚して，いわゆる休眠状態になつたものとについて実験した[2]。そしてこれらについては，生長の割合と生残率について調べた。また低水温で培養中であつたものを飽和水蒸気中に長時間露出して，その影響を調べた。それらの結果は Table 2, 3 に示した。

発芽したばかりの亜鈴形配偶体の乾燥によつて受ける影響は，大体 **1** の場合と同じようにスライドの部分によつて，乾燥の程度によつて死んだり，生長がおくれたりしたが，着生直後の胞子より露出によつて受け

Table 3–A. Effect of exposure upon the growing gametophytes.

Humidity	Time of exp.	Rate of living and dead gametophytes: start, living	start, dead	after 2 days, living	after 2 days, dead	after 4 days, living	after 4 days, dead	Survival rate: start	after 2 days	after 4 days
Contl.	0	100 % (1.6)	0 %	100 % (1.6)	0 %	100 % (1.6)	0 %	100 %	100 %	100 %
100 %	30 min.	100 (2.0)	0	100 (2.1)	0	100 (4.6)	0	100	100	100
	60 min.			100 (11.8)	0	100 (14.9)	0	100	100	100
70.4	30 〃	100 (2.4)	0	100 (12.1)	0	100 (13.4)	0	100	100	100
	60 〃			0	100	0	100	100	0	0
45.0	30 〃	100 (1.7)	0	67.7 (14.6)	32.3	77.8 (23.9)	22.2	100	67.7	57.8
	60 〃			0	100	0	100	100	0	0

Zoospores were shed. June 17. 1958.
Water temperature in culture vessel. 19.9～21.2°C.

Desiccation	July 14.		
Time	10: 25	10: 55	11: 25
Air temp.	25.1°C.	25.3	26.1
Water temp.	21.2°C.	21.2	21.2

Number in ( ) shows percentage of individual having dead cells.

Tabl 3–B. Effect of exposure upon the resting typed gametophytes with thickened cell wall.

Humidity	Time of exp.	Rate of living and dead gametophytes: start, living	start, dead	after 2 days, living	after 2 days, dead	after 4 days, living	after 4 days, dead	Survival rate: start	after 2 days	after 4 days
100 %	30 min.	94.7 % (2.8)	5.3 %	95.0 % (3.2)	5.0 %	100 % (2.9)	0 %	100 %	100 %	100 %
	60 min.			98.0 (9.5)	2.0	100 (1.0)	0	100	100	100
70.4	30 〃	100 (20.7)	0	99.1 (22.2)	0.9	100 (4.5)	0	100	99.1	90.2
	60 〃			6.6 (3.0)	93.4	14.5 (9.6)	85.5	100	6.6	4.5
60.7	30 〃	97.7 (3.1)	2.3	100 (3.6)	0	100 (4.5)	0	100	99.4	98.5
	60 〃			10.0 (0)	90.0	0.6 (0)	99.4	100	9.8	0.6
45.0	30 〃	98.5 (6.2)	1.5	89.8 (12.6)	10.2	100 (12.9)	0	100	90.4	65.7
	60 〃			0.6 (0.6)	99.4	0	100	100	0.6	0

Zoospores were shed. June 17. 1958.
Water temperature in culture vessel. 23.9～26.8°C.

Desiccation	July 22.		
Time	9: 25	9: 55	10: 25
Air temp.	27.1°C.	27.2	27.6
Water temp.	26.8°C.	26.8	26.8

Table 3-C. Effect of exposure in the air of 100% for long time upon the gametophytes.

No.	Time of exp.	Rate of living and dead gametophytes: start. Aug. 7 living	dead	Aug. 11 living	dead	Aug. 16 living	dead	Aug. 20 living	dead	Sep. 18 living	dead	Survival rate Sep. 18
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
I	Aug. 7〜Aug. 8 1 day	100 (1.5)	0	100 (0.6)	0	100 (2.9)	0					100
II	Aug. 7〜Aug. 12 5 days	98.6 (0.3)	1.4			77.8 (21.2)	22.2	63.6 (11.1)	36.4			81.2
III	Aug. 7〜Aug. 18 11 days	99.8 (5.5)	0.2					52.1 (15.3)	47.9			72.3
IV	Aug. 7〜Sep. 8 32 days	100 (2.8)	0							57.7 (24.6)	42.3	54.9

Zoospores were shed. June 11. 1958.
Air temperature in exposure.
I. 26.1〜26.2°C. II. 25.8〜27.3°C. III. 25.8〜28.2°C. IV. 25.4〜29.1°C.

る影響は少なかつた。

また，かなり成長した配偶体（♂ 6〜14 細胞位，♀ 2〜5 細胞位）の場合も大体同様であつた。しかし，この場合は後述する芽胞体の場合にもいえることであるが，スライド上に繁殖した藍藻類，硅藻類の多少によつてスライドの乾燥程度が異なり，これらの雑生物の多く着生した部分では水分が長く保たれるので，配偶体は死ぬことが少なかつた。この雑生物の着生の多少が，やや露出の影響を表わす数値に影響していると考えられた。また，この実験においては配偶体の一部だけが死ぬこともあつたが，一部の細胞が死んでも生き残つた部分は，その後普通に成長し，成熟した。また，休眠状態にない配偶体の方が，休眠状態にある配偶体よりやや露出の影響を大きくうけるように思われたが前者の方が実験時の気・水温の差が大きかつたので，これが影響したのかも知れない。

また，飽和蒸気（湿度 100 %）中に長時間露出した実験では，海水にうつした後，容器を水道水で冷却しつつ，比較的低温（21.2〜23.2°C）で培養したが， Table 3-C に示すごとく，1 日間の露出では殆んど影響がなく，5 日，11 日，32 日の露出では配偶体個体の全細胞が死ぬもの，あるいは一部の細胞が死ぬものもあつた。そして 32 日間処理でも生き残つたものは，その後順調に生育，成熟して 11 月には芽胞体を生じた。

3. 芽胞体の受ける影響

芽胞体についても **1**，**2** と同様に実験したが，その結果は Table 4 に示した。この場合，褪色して死んだと思われる細胞でおおわれる部分が芽胞体の体表面の 1/3 以下の

Table 4-A. Effect of exposure upon the young sporophytes.

Humidity	Time of exp.	Rate of living and dead young sporophytes: start living	start dead	after 2 days living	after 2 days dead	Survival rate: start	after 2 days
100 %	30 min.	100 % (0.3)	0 %	99.9% (0.2)	0.1%	100%	99.9%
	60 min.	100 (2.6)	0	99.6 (2.5)	0.4	100	99.6
84.0	30 〃	97.5 (4.1)	2.5	97.9 (5.0)	2.1	100	100
	60 〃	94.9 (5.6)	5.1	98.0 (4.8)	2.0	100	100
70.4	30 〃	99.9 (0)	0.1	99.9 (0)	0.1	100	100
	60 〃	100 (0)	0	100 (7.3)	0	100	100
60.7	30 〃	94.7 (6.2)	5.3	95.5 (6.3)	4.5	100	90.8
	60 〃	99.5 (3.3)	0.5	97.6 (1.8)	2.4	100	87.9
45.0	30 〃	98.5 (0.9)	1.5	97.6 (2.0)	2.4	100	83.9
	60 〃	95.0 (8.4)	5.0	97.5 (5.8)	2.5	100	53.0

Desiccation	Nov. 6. 1958.		
Time	11: 05	11: 35	12: 05
Air temp.	15.9°C.	16.8	16.9
Water temp.	15.3°C.	15.6	15.9

Table 4–B. Effect of exposure upon the young sporophytes.

Humidity	Time of exp.	Rate of living and dead young sporophytes				Survival rate	
		start		after 2 days			
		living	dead	living	dead	start	after 2 days
% 84.0	150 min.	99.8% (1.4)	0.2%	99.3% (5.7)	0.7%	100%	97.0%
	180 min.	98.5 (1.5)	1.5	87.5 (5.5)	12.5	100	87.3
70.4	150 〃	100 (0.6)	0	90.9 (4.9)	9.1	100	74.3
	180 〃	97.7 (2.9)	2.3	32.5 (5.8)	67.5	100	26.8
60.7	150 〃	97.9 (1.5)	2.1	98.5 (1.6)	1.5	100	85.0
	180 〃	100 (0.2)	0	67.0 (6.8)	33.0	100	36.2

Desiccation	Nov. 17. 1958.			
Time	11: 40	13: 10	14: 10	14: 40
Air temp.	13.6°C.	14.6	14.7	14.7
Water temp.	12.8°C.	—	13.4	13.6

Table 4–C. Effect of exposure under direct rays of the sun upon the young sporophytes.

Humidity	Time of exp.	Rate of living and dead young sporophytes				Survival rate	
		start		after 2 days			
		living	dead	living	dead	start	after 2 days
% 100	30 min.	97.5% (5.0)	% 2.5	100 % (2.5)	% 0	% 100	% 100
84.0	30 〃	99.3 (5.7)	0.7	10.0 (2.5)	90.0	100	0.2
70.4	30 〃	90.9 (4.9)	9.1	17.4 (5.2)	82.6	100	4.3
60.7	30 〃	98.5 (1.6)	1.5	0	100	100	0
45.0	30 〃	98.6 (1.4)	1.4	0	100	100	0

Desiccation	Nov. 19.	
Time	13: 35	14: 05
Air temp.	20.2°C.	20.2
Water temp.	14.7°C.	16.9

場合は生に含め，1/3 以上の場合は死として測定した。実験に使用した芽胞体は，長さ 50～700 μ 位に生長したものであつた。

この実験においては，スライドに硅藻が繁殖したり，芽胞体も密生していたり，かつ低温での実験であつたためか水分が比較的よく保たれ，湿度 60.7%，45.0%，60 分露出でも僅かに影響が現われたのみであつた。しかしこれ以上長時間露出した場合は，84.0% で 3 時間露出，70.4%，60.7% で 2.5 時間露出で影響があつた (Table 4–A, B)。

なお，直射日光下では室内気温が 16°C であるのに desiccator 内の気温は 18.0°C となり，スライドは大体 20～21°C の温度となつたが，この場合は 15 分間の露出で湿度 100% の場合は水分が残り 84.0%，70.4% で一部に水分が残つたのみで，他はほとんど乾き，30 分間では 100% の場合のみが水分が僅かに残つたのみで他は乾いてしまつた (Table 4–C)。

芽胞体をスライドよりはぎとり，乾いたスライド上にのせて，気温 14°C，湿度 65% の下で露出したまま検鏡して細胞の変化を観察したが，5 分間では原形質分離は見られないが，6 分後位から細胞間に透明部を生じて原形質分離を起し始め，10 分後には完全に原形質分離を起し，その後 20 分，30 分後にも特に変化は見られなかつた。そしてこれらを 10 分後，20 分後，30 分後に水温 11.2°C の海水にうつして培養し，2 日後に観察したが，すべて死んでいた。

総括並びに考察

以上の結果を総括すれば，露出した際の湿度，温度は着生地物の水分，およびワカメの配偶体，芽胞体の表面水分の消失に大きな影響をおよぼすもので，ワカメ配偶体，芽胞体は乾燥すれば外気の湿度，温度に余り関係なく，大体数分で原形質分離を起して露出後海水に移しても死んでしまうようであつた。しかしなが

らワカメの着生胞子，配偶体，芽胞体が乾燥されるまでの時間は露出中の湿度，気温によつて異なり，高温ほど，また低湿度ほどその時間は短かかつた。また直射日光下では，これを避けた場合に比して着生地物および配偶体，芽胞体の温度上昇が激しく，乾燥が早いので影響は大きい。さらには露出中の気温と，海水に移した時の水温との差も影響を与えているかも知れない。また着生直後の胞子と配偶体に発芽したもの，および休眠状態にない配偶体と休眠状態にある配偶体とでは，乾燥によつて受ける影響度が異なり，それぞれ前者の方が大きな影響を受けるようである。芽胞体と配偶体とは露出したときの温度が異なるので，乾燥による影響の大小は比較することはできないが，両者ともに同じ位の時間で原形質分離を起すことから考えて大差はないのではないだろうか。

ワカメ増，養殖作業の施行中にワカメの着生胞子，配偶体，芽胞体が露出されることはしばしばあることであるが，結局は露出時間を短かくし，直射日光をさけて乾燥しないよう留意すべきであると考える。特に着生直後の胞子は作業上露出されることが多いのに，乾燥に対しては弱いので，留意すべきであると考える。また養殖のため種繩の移殖の時期は，露出という面のみから考えれば配偶体期，芽胞体期のいずれでもよいように思われる。また種繩に付着物が着生することは，余り多いときはワカメの配偶体を覆つてしまつて，その成長を阻害することもあろうが，露出に際しては，これによつて水分が保たれ，乾燥がおくれるので多少は硅藻その他の付着生物の着生はあつた方がよいこともあるように思う。さらに飽和水蒸気（湿度100%）中での露出は，その影響が少なく，高温でも配偶体はよく長時間の露出に耐えうるので，移殖方法などにおいて考慮すべき条件であろう。

要はワカメの着生胞子，配偶体，芽胞体の露出に耐えうる時間は，着生地物，着生地物の表面の状態，附着生物の多寡および湿度，温度によつて異なるので定め難いが，これらは着生地物が水分を失つて乾燥されれば数分にして死滅するので，着生地物が乾燥する限度は越えてはならないといいうるのではないだろうか。

文　　献

1) 愛知県水試尾張分場：昭和 30 年度業務報告書，(1956).
2) 斎藤雄之助：本誌，**22** (4)，(1956).
3) 須藤俊造：口頭発表，日水学会高知大会，(1951).
4) 水産庁調整二課：浅海外海増殖事業および同事業効果調査報告書，昭和27～32 年度，(1952～1957).

カツオ精巣からプロタミン硫酸塩の単離および その二，三の性質

本 間 輝 武

(1959 年 7 月 2 日受理)

ISOLATION OF PROTAMINE SULFATE FROM BONITO, *KATSUWONUS VAGANS LESSON*, AND ITS SOME PROPERTIES

Terutake HONMA*

Sulfates of protamine type basic protein were prepared from bonito milt. The materials were purified through an activated alumina column or by 67% acetone fractionation of their picrates. A few kinds of amino acid, e.g., arginine, proline, valine, alanine, glycine, tyrosine and serine are found to be contained in the purified material through the alumina column. The molecule appears to consists of a single polypeptide chain having proline as the amino terminal residue. The molecular weight is estimated to be 5000~6000, based on the absorption spectrum of the DNP-derivative.

魚類精巣中に含まれる塩基性蛋白質，すなわちプロタミン，ヒストン等についての研究は古くから行なわれている。たとえば山川等[1]は日本産魚類精巣から塩基性蛋白質，プロタミンを単離し，その構造を研究している。しかしなお不明な点が多く，また均一性についても明らかでない。近年蛋白質化学の進歩につれてこの問題もふたたび取り上げられるにいたつた。安藤等[2]は日本産ニシン精巣から得られるプロタミンのアミノ末端基は FELIX 等の得た欧洲産のものと異なることを指摘し，FELIX 自身[3]もまた魚種によつてプロタミンのアミノ酸組成が異なるとのべている。

マガツオのプロタミンについては古く山川，野方によつて発見されて以来，その後の研究は見当らないようである[4]。そこで著者は，さきにのべたような理由からふたたびマガツオプロタミンについて調べる目的でマガツオ *Katsuwonus vagans*, LESSON の精巣からプロタミン硫酸塩を単離し，その構成アミノ酸，アミノ末端基等につき測定した。その結果得られたプロタミン硫酸塩は，サルミン，クルペイン等によくにた塩基性蛋白質に属することを推定した。

実 験

試料: 1958 年 6 月，7~8 月に清水市缶詰工場のカツオ処理場で精巣を集め，水洗後ただちに凍結し，プロタミン硫酸塩の抽出までそのまま保存した。抽出はその後 1~4 ケ月間に行なつた。6 月に集まる精巣は 7~8 月に集まるものにくらべて小さいものが多く思われたが，重量約 40g 前後のものを集めた。

プロタミン硫酸塩の抽出: a，精巣より精子核を単離せず直接に抽出する方法　サルミン硫酸塩の抽出において当研究室の芦沢は，従来から KOSSEL の方法として知られている単離精子核から出発するかわりに，直接生の精巣から鉱酸で能率よく抽出できることを経験[5]していたのでこの方法を応用してみた。6 月に集めた凍結精巣 2.7kg を細切し，5% 硫酸水 2,000cc を加えて 2 時間かきまぜ抽出する。抽出液を遠心分離したのち，残渣にさらに上記硫酸水 1,000 cc を加えて抽出をくり返す。抽出液を遠心分離してさきの抽出液と合せ，その 10 倍容のアルコール中に注入する。1 夜放置後，生じた沈でんを少量の熱蒸溜水にとか

* 清水製薬株式会社研究課 (Shimizu Pharmaceutical Co., Ltd., Shimizu, Shizuoka Pref.).

し低温に放置すると油状物が析出する。この油状物を集め適量の蒸溜水を加えて溶液状とし，ふたたび 10 倍容のアルコール中にいれて沈でんをつくらせる。この沈でんを少量の蒸溜水にとかし，沪紙パルプ層を用いて沪過し，沪液を 10 倍容のアルコール中に入れる。生じた沈でんを集めアルコール，アセトン，エーテルで逐次洗滌し減圧で乾燥する。収量 5.2g，白色粉末，これを *a* 粉末と称する。

b) 7～8 月に集めた凍結精巣 2kg を a) とどうようの方法で操作する。収量 4.1g，白色粉末， これを *b* 粉末と称する。

c) 単離精子核より抽出する方法[6]　b) に用いたものと同じ凍結精巣 2kg を 2,000cc の 0.05M くえん酸ソーダに入れて低温でかくはんし，のちかるく遠心分離して沈でん物と乳濁液とに分ける。沈でん物をふたたび 1,500cc の上記のくえん酸ソーダとともにかきまぜたのち， 前とどうようにかるく遠心分離を行ない，沈でんと乳濁液を分ける。 両方の乳濁液を合せ，16,000r.p.m. で遠心分離すると精子核が沈でんする[6]。 これをくえん酸ソーダで 3 回洗滌し残溜物を凍結乾燥する。 収量 173g. つぎにこれに 5% 硫酸水 1,000cc を加え抽出し a) の場合とどうように処理し乾燥粉末とする。収量 2g，白色粉末，これを *c* 粉末と称する。

全窒素の定量: セミミクロケルダール法またはアゾトメトリーによつた。

吸収曲線の測定: 島津 QR-50 型光電分光光度計を用いて試料の紫外部吸収を測定した。

アミノ酸分析: 試料 25mg を 6N 塩酸 2cc とともに注射薬用アンプルに封入し，110 ± 1°C で 24 時間加水分解を行ない，その後減圧乾固し，さらに少量の蒸溜水を加えて減圧乾固することを 3 回くり返し，なるべく加水分解物から塩酸を除去した。この分解物を少量の蒸溜水にとかし沪紙上につけ， 1 一次元ブタノール: さく酸: 水 = 4: 1: 1， 2 次元フェノール: 水 = 4: 1 (アンモニア蒸気中) で展開し， ニンヒドリンで発色，各アミノ酸を同定した[7]。アルギニン含量は坂口反応[8] によつた。

アミノ末端基の測定: 橋本の方法[9] にしたがつて行なつた。すなわち SANGER 法[10] によつてプロタミン硫酸塩の DNP 誘導体を調製し，その 1% 炭酸水素ナトリウム溶液の吸収スペクトルを分析した。

結果および考察

1. 試料精巣の成熟度

魚類精巣から塩基性蛋白質を抽出するにあたつては，試料精巣の成熟度に注意する必要がある[11]。したがつて実験に用いた 7～8 月に集めたマガツオ精巣の一部をとり光学顕微鏡でかんさつしてみた。その結果，Fig. 1 にみられるように精子核で充満していた。しかし，放精直前のものかどうかをみわけることはできなかつた。

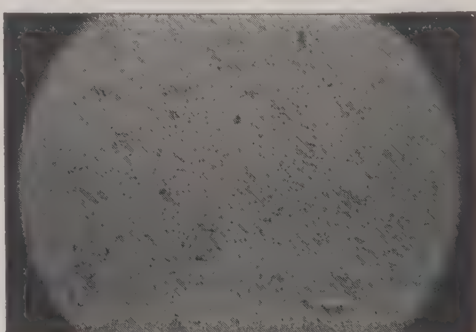


Fig. 1. Photomicrograph of bonito milt used for the preparation of protamine sulfate. The milt was collected during July to August.

2. *a*, *b*, *c* 粉末の純度

このような精巣から得られたプロタミン硫酸塩の全窒素含量は，*a* 粉末 = 18.9%，*b* 粉末 = 18.9%，*c* 粉末 = 18.5% を示し，それぞれの間に差異は余り認められず，いずれも高い値である。しかしこれらの値はヒストンの一般値にも近いし，また著者がどうようの方法でサケの精巣から抽出したサルミン硫酸塩の一般値，21～23% に比較するとはるかに少ない。 すでに抽出の項でのべたように，マガツオのプロタミン硫酸塩の濃厚熱水溶液は冷すと油状に分離してくる。これはサルミン硫酸塩の抽出過程においても全く同じでありプロタミン類の特性の一つと考えてもよいかもわからない。したがつて *a*, *b*, *c* 粉末は， さらに精製すればサルミン硫酸塩の場合とどうように高い窒素量を示すものと思い，つぎの精製法を試みた。

1) 活性アルミナ柱精製　α 粉末 500 mg を 30 cc の蒸溜水に完全にとかし，活性アルミナ柱 (メルク製活性アルミナ，1.1 cm×20 cm) に吸着させる。アルミナ柱をよく蒸溜水で洗つたのち，0.1 N 塩酸で溶出する[9]。溶出液を沪過し凍結乾燥する。この乾燥物をなるべく少量の蒸溜水にとかし，数倍量のアルコール中に入れ，2 N 硫酸適量を加えプロタミン硫酸塩を沈でんさせる。さらにアルコール，硫酸沈でんをくりかえし，最後にアルコール，アセトン，エーテルで洗滌乾燥する。収量 340 mg，光沢ある白色結晶様粉末。

2) プロタミン，ヒストンの等電沈でん分画法[12]　b 粉末 1 g を，100 cc の蒸溜水にとかし，N 可性ソーダで pH 10.5 にしたが，その溶液状態に変化がなかつたので，そのまま一夜冷室に放置する。翌朝生じたわずかの濁りを 16,000 r.p.m. で遠心除去し，上澄に対し 1) とどうようにアルコール，硫酸沈でんをくりかえし乾燥粉末とする。収量 850 mg，白色粉末。

3) ピクラートの 67% アセトンに対する溶解度差による分画法　c 粉末 1 g の水溶液に飽和ピクリン酸ソーダ溶液を加え，ピクラートとして沈でんさせる。このピクラートに 67% (W/W) 水性アセトン 100 cc を加え室温に放置したところ，非常にとけにくかつたので約 50°C まで加温し完全に溶解させた。これをじよじよに放冷して生じた沈でんを遠心除去しさらに放置すると，大部分のピクラートは沈でんとなるから，遠心分離して集め，熱蒸溜水にとかし，アルコール，硫酸沈でんを数回くりかえし，最後に得られた硫酸塩をアセトン，エーテルで洗滌乾燥する。収量 600 mg，白色粉末。

以上のようにして精製処理をしたマガツオプロタミン硫酸塩の全窒素含量は 1) 法 22.3%，2) 法 19.5%，3) 法 21.8% を示した。したがつて，以上からみると原料精巣の 6～8 月の採集時期の変動は，得られた精製プロタミン硫酸塩に差異をおよぼさないものと思われる。

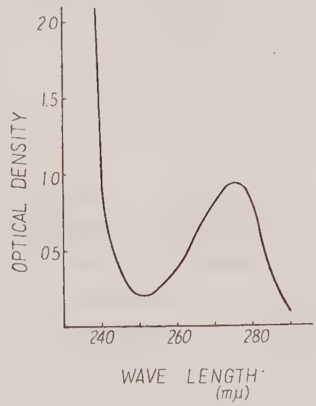


Fig. 2. Absorption spectrum of protamine sulfate purified through an activated alumina column. 0.5% aqueous solution of the material.

つぎに全窒素含量の一番高い値を示した a 粉末の 1) 法により精製されたプロタミン硫酸塩につき紫外線吸収スペクトルをとつてみると Fig. 2 のようである。魚類精巣中においては，プロタミン，ヒストン等の塩基性蛋白質は核酸と塩類様結合体として存在しているので，それらの抽出にあたつては，核酸およびその分解物の混入に注意しなければならない。しかし Fig. 2 から明らかなように得られたマガツオプロタミン硫酸塩は，260 mμ 付近になんら吸収極大を示していないので，核酸等の混入はないものと考えられる。この曲線は 275 mμ 付近に最大吸収をもつており，この吸収は pH 11 の可性ソーダ溶液中では，290 mμ 付近に移動する。またその最大吸収付近の曲線の恰好からチロシンを含むことが推定される[14]。現在までに報告されている代表的なプロタミン，すなわち，サルミン，クルペイン，イリヂン等には，チロシンおよび他の環状アミノ酸に含まれていない。しかし安藤・橋本[15]は，ニジマス精巣の成熟過程中のイリヂンの生合成的研究の結果，チロシンは精巣の成熟途中のある期間中にあらわれることを示している。マガツオプロタミンにおいては，チロシンが精巣の成熟とともに消失せず残るものとも考えられる。プロタミンの不均一性については，その試料がすでにのべてきたような方法によつて精製されたものであるにしても，充分注意する必要がある[16]。したがつてチロシンと成熟度に関しては，もつと詳細にしらべる必要があるであろう。

3. α 粉末の 1) 法により精製したマガツオプロタミン硫酸塩のアミノ酸組成

ペーパークロマトグラフィーによつて，酸加水分解物中の構成アミノ酸をしらべると，アルギニン，プロリン，バリン，アラニン，グリシン，チロシン，セリンが見出された。これらアミノ酸のニンヒドリン発色スポットのうち，アルギニンが最大でチロシン，セリンはごく僅かのようであつた。サルミン等に存在するロイシン類については，はつきり同定し得なかつた。

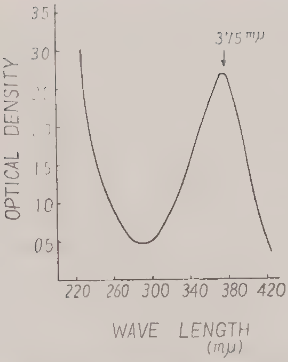


Fig. 3. Absorption spectrum of DNP-protamine sulfate in 1% aqueous $NaHCO_3$, 1 mg. per 1 cc.

アルギニンについて，酸加水分解物および直接に測定したときに得られる量比は約 10: 2 である。すなわち，このプロタミン硫酸塩中アルギンの 20% が坂口反応にあずかるにすぎない。同じような値は，サルミン，クルペイン硫酸塩について得られている[17]。このことは，このプロタミン硫酸塩とサルミン硫酸塩等の間にそれら分子中のアルギニンの配列状態に余り相違がないことを示すと思われる。

4. 3 に示した試料のアミノ末端基

Fig. 3 にその DNP 誘導体の吸収曲線を示した。この曲線の最大吸収は 375 mμ であり，その他の部分になんら曲線の異常を示さない。これは，DNP–プロリン，DNP–サルミンとどうようの吸収曲線である。したがつてアミノ末端基は，プロリンであると推定できる。さらに安藤ら[18]にしたがつて 390 mμ と 360 mμ とにおける吸収率の比，すなわち R 値を求めてみると 0.93〜0.95 の値が得られる。これは安藤らが示した，〔DNP–proine/(DNP–proline + DNP–alanine)〕× 100 の値で 90% を示すことになる。ゆえにアミノ末端基は，プロリンを主としていることが推定できる。さらに 375 mμ の吸収率を DNP–イリヂンのそれ[12]と比較してみると分子量約 5,000〜6,000 と認められる。

要　　　約

6 月〜8 月に集めたマガツオ精巣から硫酸酸性水によつてプロタミン硫酸塩を単離した。さらに (1) 活性アルミナ柱，(2) 等電分画法，(3) ピクラートのアセトン分画法によつて精製を試み，(1) および (3) による方法が効果的なことを認めた。(1) によつて精製したプロタミン硫酸塩について，ペーパークロマトグラフィーおよび坂口反応によつてアミノ酸組成をしらべ，アルギニン，プロリン，バリン，アラニン，グリシン，チロシン，セリンを見出した。また DNP–誘導体の吸収曲線から，アミノ末端基としてプロリンが主であること，分子量 5,000〜6,000 と推定した。以上の結果，得られたマガツオプロタミン硫酸塩はサルミン，クルペイン硫酸塩にきわめて似た構造をもつた塩基性蛋白質と考えられる。

終りに論文の御校閲を賜わつた清水亘教授，ならびに本研究に御援助を賜わつた芦沢広研究課長に深謝する。さらに試料に用いた精巣の成熟度につき御助言いただいた静岡県水産試験所資源課大西技師に感謝する。

文　　　献

1) 山川　洵・山本祥吉・朝倉唯一：水産講習所試験報告，**12**，1〜60 (1916).
2) T. Ando, K. Iwai, M. Yamasaki, M. Kimura, S. Ishii and T. Tamura: Bull. Chem. Soc. Japan, **26**, 406〜407 (1953).
3) K. Felix: 赤堀，水島編，蛋白質化学，**5**，267 (1957)，共立出版，東京.
4) 安藤鋭郎・岩井浩一：江上編，核酸および核蛋白質，上巻，385 (1951)，共立出版，東京.
5) 芦沢　広：未発表.
6) 鈴木堅之・渡辺　格：日化，**73**，778〜781 (1952).
7) 佐竹一夫，外：日本化学会編，実験化学講座，**23**，234 (1957)，丸善，東京.
8) S. Sakaguchi: J. Biochem., **37**, 231〜236 (1950).
9) C. Hashimoto: Bull. Chem. Soc. Japan, **28**, 385〜389 (1955).
10) F. Sanger: Biochem. J., **39**, 507 (1945).
11) 安藤鋭郎・岩井浩一・山崎　誠：赤堀，水島編，蛋白質化学，**3**，92 (1955)，共立出版，東京.
12) 橋本千恵子：日化，**79**，855〜859 (1958).
13) 安藤鋭郎・岩井浩一・山崎　誠：赤堀，水島編，蛋白質化学，**3**，89 (1955)，共立出版，東京.
14) G. H. Beaven and E. R. Holiday: Advances in Protein Chem., **7**, 319〜386 (1952).
15) T. Ando and C. Hashimoto: J. Biochem., **45**, 529〜540 (1958).
16) G. Hamoir: Advances in Protein Chem., **10**, 274〜277 (1955).
17) 安藤鋭郎・岩井浩一・山崎　誠：赤堀，水島編，蛋白質化学，**3**，109 (1955)，共立出版，東京.
18) T. Ando, M. Yamasaki, E. Abukumagawa, S. Ishii and Y. Nagai: J. Biochem., **45**, 429〜451 (1958).

寒天稀薄水溶液の粘度*

坂元道太郎・岸　本　　昭

(1959 年 7 月 28 日受理)

VISCOSITIES OF AGAR IN AQUEOUS POTASSIUM CHLORIDE.

Michitaro Sakamoto and Akira Kishimoto**

Reduced viscosities, η_{sp}/C, of a commercial sample of agar-agar in aqueous potassium chloride were measured at 60°C. as a function of agar concentration C (g./100 ml.) and KCl concentration x (moles/l.). The family of η_{sp}/C vs. C curves obtained for different x was essentially similar to that which had been reported for many other polyelectrolytes such as sodium carboxymethyl cellulose. From comparison with data for other typical polyelectrolytes some evidence was obtained which indicates the agar-agar molecule to have a very low charge density and a high chain stiffness.

寒天は硫酸基，カルボキシル基の二種（強酸型，弱酸型）の電離基をもつ複雑な線状（多分いくらかの分枝もふくむ）高分子塩と考えられている[1,2]。以前からその水溶液粘度がポリアクリル酸ソーダや carboxymethyl cellulose のソーダ塩の水溶液と同じような“高分子電解質”的挙動を呈することが知られてきた。しかし断片的な報告が多く[3,4,5,6]，他の典型的な高分子電解質についてえられているような系統だつた実験データはまだ発表されていないようである。本論文は KCl を添加中性塩として市販寒天について求めた比較的詳細な粘度測定の結果を報告する。

実　　　験

1. 資料および溶液

静岡大学工学部応用化学教室勝浦教授より恵与された市販の寒天を常法[7]にしたがつて精製した後，実験に供した。添加中性塩としては KCl をえらんだ；特級試料を再結した後使用した。溶液を作るには比較的高濃度の KCl 溶液に対しては通常の蒸溜水，低濃度 KCl 溶液および純水に対しては長いシリカ管を使つて注意深く再溜した水を用いた。

測定に必要な寒天溶液は測定の前日につぎの手順にしたがつて作つた。測定毎に溶液を作りかえたのは放置中に老化 (ageing) がおこることを心配したからである。精秤した精製寒天を希望の濃度の KCl 水溶液に入れ，室温に 12 時間放置する。この間に寒天は膨潤する。つぎにこの液を 1 時間 95°C で加熱する（はげしく攪拌する)。そうすると寒天は溶けてクリアーな溶液がえられる。この液を直ちに No. 3 のガラス・フィルターを通して沪過し，1 時間 60°C の恒温槽に放置する。これを同じ恒温槽中に立てた粘度計に手早く移し測定をはじめる。

2. 粘　度　計

特別に設計した（すべての測定は 60°C で行つたので測定中の溶媒の蒸発を防ぐようにしなければならなかつた）Ubbelohde 型 (suspended meniscus) の粘度計を用いた。60°C における水の流下時間は 588.9 秒であつた。のちにみるように，本試料寒天に対しては非常に低い濃度（寒天の）まで測定を行わなければ

* 本研究を Studies on Physico-Chemical Properties of Marine Products and Related Substances-VIII とする。

** 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Kyoto Univ.).

ならないので，このような長い流下時間の粘度計を用いることが必要であつた。測定はすべて 60±0.01°C に保つた恒温槽中で行つた。60°C を測定温度にえらんだ理由は以下に述べる。本粘度計では粘度に対する運動エネルギーの補正は無視できるほど小さい。速度勾配の影響も測定した還元粘度がすべて10(100 ml/g)以下のオーダーの小さいものなので無視できると仮定した。

実験結果と吟味

1. 何故 60°C を測定温度にえらんだか

以前本研究室で寒天水溶液の系統的な粘度測定を 40°C で行なおうとしたことがあつた。これは三木，二宮[8]が寒天ゲルの弾性測定から 35°C 付近で急激なゲル化が起ることをみたからである。しかし，われわれは非常に濃度が低くても寒天水溶液はなお 40°C でもゲル化を起し，毛細管式の粘度計では安定した測定ができないことをみいだした。事実，この温度では流下時間は測定ごとに異り，溶液放置時間の影響が著しく，時には毛細管が小さなゲル粒子でつまつたりした。すでに中川[4]，平井ら[6]はもつと低い温度に対する寒天水溶液の粘度測定の結果を報告しているが，われわれの遭遇したゲル化の問題を考えるとき彼等の結果は多少疑わしいとしなければならない。これが本研究をはじめた理由の一つである。勿論，ゲル化する温度は試料寒天の分子量，二つの電離基の密度，その相対比，また溶液濃度，添加塩濃度などに関係することを考えなければならない。しかしこれらについての詳細な研究はまだ発表されていないように思われる。

以上の理由によつて，われわれはまずゲル化によつて粘度測定がみだされないような温度を求めることにした。これには種々の条件の寒天溶液を高温からゆつくりと冷却してゆき，そのなかにゲル様のアグレゲーションが目視できはじめる温度を定めた。Table 1 はその結果である。これからわれわれの粘度測定で問題とする寒天濃度および KCl 濃度の範囲では少くとも 55°C 以上の温度で実験を行わないとゲル化の影響がさけられないことが推定できる。そこで本実験はすべて 60°C で行うこととした。

Table 1. Aggregation Temperatures for Agar-agar Solutions.

x (moles/l.)[a]	C (g./100ml.)[b]	Aggregation Temp. (°C)[c]
0	0.1	55
0	0.04	50～55
0.0005	0.1	45
0.0035	0.04	45
0.0035	0.02	40
0.1	0.1	40
1.0	0.1	45
1.0	0.075	30

a. Concentration of added KCl.
b. Concentration of agar-agar.
c. Approximate temperatures at which aggregation of agar became visible in the given solutions.

2. 還元粘度対濃度曲線

以下において C (g/100 ml) は寒天の濃度，x (moles/l) は添加した KCl の濃度を表わすものとする。本実験ではいわゆる "iso-ionic dilution"[9] をやらず，一定の x で C をかえる稀釈法を用いた。Fig. 1 は 12 の x の値について還元粘度，η_{sp}/C，対 C の曲線を示したものである。純水中での測定は再現性が十分でなく，かつ図に示した最低濃度以下の C では信頼のおけるデータが得られなかつた。これに反して高い x の領域では測定値の再現性

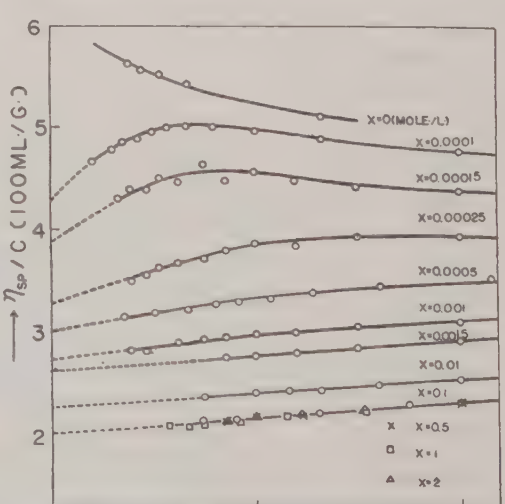


Fig. 1. Reduced viscosity curves of agar in aqueous potassium chloride at different ionic strengths. x is the concentration of added KCl in moles per liter.

はきわめてよい。

Fig. 1 の曲線群の一般的傾向はこれまで多くの研究者によつて報告されている他の線状高分子電解質のそれと全く相似である[9,10]。主な違いはつぎの二点である。(1) 純水中の η_{sp}/C の値が他の高分子電解質(たとえばアルギン酸ソーダ[11], carboxymethyl cellulose のソーダ塩[12]) のそれにくらべて著しく小さい。(2) η_{sp}/C の極大値が同じ x の値でくらべた時，他の典型的な高分子電解質においてみられるよりはるかに低い C の値にあらわれる。これらの事実は本寒天試料の分子量が小さいこと (おそらく高々 2〜3 万程度)，電離基密度が非常に低いこと，高分子鎖が堅くて分子がふくれにくいことを仮定すれば説明できる。この第三の事柄は寒天分子が繊維素分子に似た構造をもつていること[1]から了解される。第一，第二の事柄も従来の多くの研究からうなずける。事実，本試料の硫酸基密度を硫酸重量法で決めた結果は 0.040 (mole/$C_6H_{10}O_5$) であり，勝浦[2]が高周波滴定から多くの市販寒天について決めたカルボキシル基の密度の平均値は 0.047 (mole/$C_6H_{10}O_5$) であるから，本寒天はガラクトーズ基あたり 0.1 mole にもみたない電離基しかもつていないことが期待できる。試料の分子量は浸透圧測定から求めようとしたが，まだ成功していない。

Fig. 1 の各曲線を図に破線で示してあるように $C\to 0$ へ外挿し，えられた極限粘度 $[\eta]$ を $1/\sqrt{x}$ に対してえがくと Fig. 2 の実線のようになる。この曲線の形は HERMANS-OVERBEEK の高分子電解質溶液理論[13]から予期されるものと一致する。$1/\sqrt{x}\to 0$ の領域において曲線が水平となることは特に注目してよい。$1/\sqrt{x}\to 0$ における $[\eta]$ の極限値はほぼ 2.0 であるが，この値はさきに藤田ら[14]が分子量およそ 200 万のポリアクリル酸ソーダの NaCl 水溶液において $1/\sqrt{x}\to 0$ (この場合 x は NaCl の濃度) に対して求めた $[\eta]$ の値とほとんどちがわない。これは非常な高濃度の中性塩中では分子量高々数万の寒天分子が 200 万にも達する高分子量のポリアクリル酸ソーダの分子と同じ位の大きさにあること，つまり寒天の分子鎖は非常に堅くてまるまりにくいことを物語るものといえる。

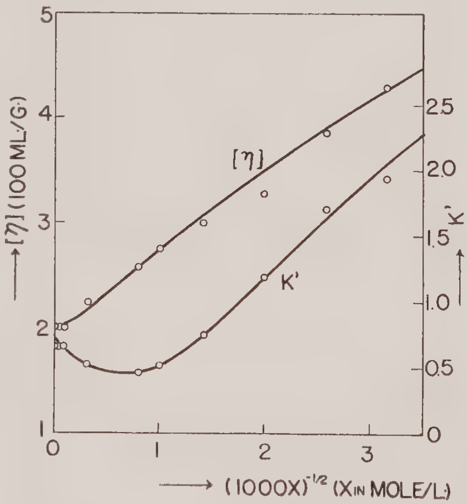


Fig. 2. Intrinsic viscosity, $[\eta]$, and Huggins' constant, k', plotted against the reciprocal root of ionic strength, x.

最後に，Fig. 1 の曲線の $C=0$ における傾斜から求まる HUGGINS の定数 k' を $1/\sqrt{x}$ に対してえがく。Fig. 2 の破線はその結果である。k' がある $1/\sqrt{x}$ の値のところで極小になるが，これはさきにポリアクリル酸ソーダの NaCl 溶液でみとめられたものである。ただし，極小のあらわれる理由として藤田ら[14]が提案した説明は寒天のようなかたい鎖の分子に対してはあてはまらないであろう。

文　　献

1) 高橋武雄: 海藻工業，産業図書，東京 (1946).
2) 勝浦嘉久次・鈴木昭三郎: 工化，**59**，1067 (1954).
3) H. R. KRUYT and H. G. BUNGENBERG DE JONG: *Kolloid chem. Beihefte*, **28**, 1 (1928).
4) 中川鶴太郎: 日化，**72**，616 (1951).
5) 勝浦嘉久次: 工化，**56**，773 (1953).
6) 平井西夫・西村範生: 日化，**75**，248 (1954).
7) 高分子学会: 高分子実験学講座，**5** 巻，共立出版社，東京 (1957)，17 章.
8) Y. MIKI and K. NINOMIYA: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **22**, 311 (1956).
9) D. T. F. PALS and J. J. HERMANS: *Rec. trav. chim.*, **71**, 433 (1952).

10) 例えば，R. M. FUOSS and U. P. STRAUSS: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 836 (1949); H. FUJITA and T. HOMMA: *J. Polymer Sci.*, **15**, 277 (1955).
11) H. FUJITA, A. KISHIMOTO, and K. NINOMIYA: *Memoirs Coll. Agr., Kyoto Univ.*, No. **76**, 9 (1957).
12) H. FUJITA and T. HOMMA: *J. Colloid Sci.*, **9**, 591 (1954).
13) J. J. HERMANS and J. TH. G. OVERBEEK: *Rec. trav. chim.*, **67**, 761 (1948); 文献 9) も参照のこと.
14) H. FUJITA, K. MITSUHASHI, and T. HOMMA: *J. Colloid Sci.*, **9**, 466 (1954).

CHEMICAL SIGNIFICANCE OF THE VOLATILE COMPONENTS OF SPICES IN THE FOOD PRESERVATIVE VIEWPOINT—IV.* STRUCTURE AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF TERPENES

Teruhisa KATAYAMA and Isamu NAGAI**

(Received July 29, 1959)

Introduction

Antibacterial activity of terpenes have been studies with the view of using some terpenes as antiseptic or antifungal agents in pharmaceutics[1),2),3),4)]. For the purpose of examining the antibacterial activity of the terpenoid compounds contained in those condiments which are used to seasoned fish ham and fish sausage, antibacterial action of the volatile components of coriander[5)] and nutmeg[6)] was tested and reported in the previous papers. In the present work, experiments were carried out to find relationship, if any, between the structure of pure terpenes and their antibacterial activity. The terpenoid compounds which showed antibacterial activity against *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morganii* and *Escherichia coli* in dilutions 2,000 or over were eugenol, carvacrol, thymol, isoborneol, vanilline, and salicylaldehyde. Antibacterial activity of some volatile alcohols and aldehydes were also tested.

Experimental

(1) **Material:** The pure terpene compounds, volatile alcohols, and aldehydes used in the present experiment were all commercial products and were used after being purified by fractional distillation[7)].

(2) **Test Bacteria:** The bacteria used for antibacterial tests were *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morganii* and *Escherichia coli*.

(3) **Assay of Antibacterial Activity:** Antibacterial activity of the compounds were assayed by the agar streak method[8)] described in the preceding reports[5),6)].

(4) **Experimental Results:** The results of the antibacterial tests are summarized in Table 1.

As is shown in Table 1, the terpenoid compounds which showed antibacterial activity against *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morganii* and *Escherichia coli* in dilutions 2,000 or over were eugenol, carvacrol, thymol, isoborneol, vanillin, and salicylaldehyde.

---

* The previous reports—II, III. J. Fac. Fish. Anim. Hush. Hiroshima Univ., 2, 349, 355, 1959.

** Fac. Fish. Animal Husb., Hiroshima Univ., Hiroshima Pref., Japan
(片山輝久・永井勇, 広島大学水畜産学部)

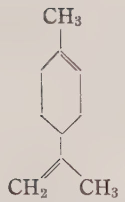
Table 1. Antibacterial activity of terpenes, volatile alcohols and aldehydes.

Bacteria / Dilution* / Compounds	*Bac. subtilis*	*Esch. coli*	*Salm. enteritidis*	*Staph. aureus*	*Prot. morganii*	*Pseud. aeruginosa*
Linalylacetate	20	10	20	20	20	10
Terpenylacetate	100	—	—	100	10	—
n-Hexylalcohol	100	100	100	20	100	100
n-Octylalcohol	200	200	200	200	200	200
Furfurylalcohol	10	—	10	20	20	100
Benzylalcohol	20	20	20	20	20	200
α-Terpineol	20	20	20	20	20	20
Citronellol	200	20	100	100	100	20
Geraniol	1000	200	200	200	200	200
Linalool	10	20	20	10	10	20
Eugenol	<2000	<2000	<2000	<2000	<2000	<2000
Thymol	1000	<2000	2000	1000	1000	<2000
o-Cresol	100	100	100	100	1000	1000
m-Cresol	100	100	100	100	100	1000
p-Cresol	100	100	100	20	100	100
Carvacrol	2000	200	1000	2000	<2000	<2000
Isoborneol	2000	—	1000	1000	1000	1000
Vanilline	2000	2000	2000	2000	<2000	200
Isovanilline	100	100	100	100	100	200
Salicylic aldehyde	2000	<2000	<2000	<2000	2000	1000
Furfural	20	20	20	20	20	100
Cinnamic aldehyde	200	20	100	200	100	20
Anisaldehyde	20	100	200	20	1000	1000
Citronellal	100	10	100	100	20	20
Citral	200	100	100	100	100	20
Perillaldehyde	100	20	20	20	20	10
Carvone	100	20	20	20	20	20
Pseudoionone	200	20	20	200	200	1000
Comphene	10	10	10	—	—	20
Fenchon	20	10	20	20	20	20
Benzaldehyde	20	100	100	20	100	100
Acetaldehyde	20	20	20	20	20	20
Safrol	100	—	100	100	100	100
Isosafrol	200	10	1000	200	200	100
1:8-Cineol	—	20	10	10	10	10
Ascaridol	10	10	10	10	10	20
α-Pinene	10	10	10	10	10	10
β-Pinene	100	20	20	20	100	100
Terpinolene	20	20	100	20	20	200
d-Limonene	200	10	10	10	10	100
α-Phellandrene	10	20	20	10	10	10
p-Cymene	—	—	—	—	—	10
Lemon oil	100	—	10	10	10	—

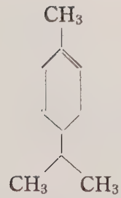
* Maximum dilution at which bacterial growth was inhibited.

Discussion

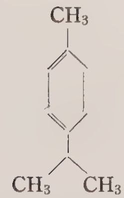
Compounds which showed inhibitory action on the growth of the test bacteria in dilutions 2,000 or over were eugenol, carvacrol, isoborneol, thymol, vanillin, and salicylaldehyde. As is shown below, there was no difference in antibacterial activity according to the number of double bonds in a cyclohexane ring.



1-methyl-4-isopropenyl-
1-cyclohexene
(d-limonene)

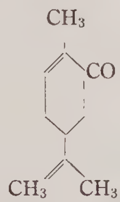


1-methyl-4-isopropyl-1,5-
cyclohexadiene
(α-phellandrene)



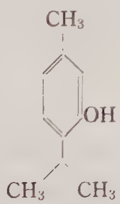
1-methyl-4-isopropyl-
benzene
(p-cymene)

Further, there was no change in the antibacterial activity on introduction of a ketone radical into the forgoing compound.

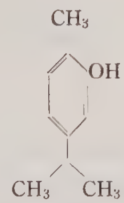


1-methyl-4-isopropenyl-6-cyclohexen-2-on
(carvone)

Introduction of a hydroxyl resulted in increased antibacterial activity to show growth inhibition in dilutions 2,000 or over.

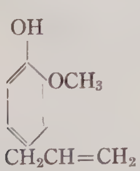


3-methyl-6-isopropyl-phenol
(thymol)

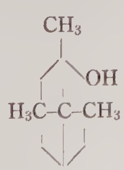


2-methyl-5-isopropyl-phenol
(carvacrol)

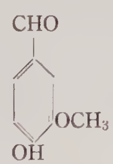
Eugenol, isoborneol, vanillin and salicylaldehyde introduced with hydroxyl into the ring, also showed antibacterial activity in dilutions 2,000 or over. It is interesting that all these compounds, possessing a hydroxyl directly bonded to a cyclohexane or



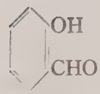
1-hydroxy-2-methoxy-
4-allylbenene
(eugenol)



2-hydroxy-camphane
(isoborneol)



4-hydroxy-3-methoxy
benzaldehyde
(vanilline)



O-hydroxybenzaldehyde
(salicylaldehyde)

benzene ring, show antibacterial activity in dilutions over 2,000. It is pressumed that addition of the condiments containing such terpenes to fish ham and fish sausage will have antiseptic and antifungal effect.

Summary

1. Antibacterial activity of 32 kinds of pure terpenes was examined against *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginose*, *Proteus morganii* and *Escherichia coli*. It was thereby found that carvacrol, thymol, isoborneol, vanilline and salicylaldehyde show antibacterial activity in dilutions 2,000 or over.

2. There was no difference in antibacterial activity according to the number of double bonds in the cyclohexane ring and introduction of a ketone radical to form cyclohexenone also had no effect on antibacterial activity.

3. Derivatives of thymol, carvacrol, eugenol, isoborneol, and vanillin, in which a hydroxyl had been introduced and directly bonded to the cyclohexane ring, showed antibacterial activity in dilutions 2,000 or over.

4. It was presumed that addition of vanilla or eugenol as an essence to fish ham or fish sausage would be effective for the preservation of these food products.

Acknowledgement

We express our deep gratitude to Prof. Y. TSUJI of our Faculty for many valuable suggestions rendered during the course of this work.

References

1) K. OKAZAKI and S. OSHIMA: J. Pharm. Soc. Jap., **72**, 558–560 (1952).
2) K. OKAZAKI and S. OSHIMA: J. Pharm. Soc. Jap., **72**, 564–567 (1952).
3) K. OKAZAKI and T. KAWAGUCHI: J. Pharm. Soc. Jap., **72**, 561–564 (1952).
4) M. NISHIDA: J. Pharm. Soc. Jap., **78**, 435–436 (1958).
5) T. KATAYAMA and I. NAGAI: J. Fac. Fish Anim. Husb., Hiroshima Univ., **2**, 349–353 (1959).
6) T. KATAYAMA and I. NAGAI: J. Fac. Fish. Anim. Husb., Hiroshima Univ., **2**, 355–358 (1959).
7) T. KATAYAMA: J. Fac. Fish. Anim. Husb., Hiroshima Univ., **2**, 67–77 (1958).
8) S. A. WAKSMAN and H. C. REILLY: Ind. Eng. Chem., **17**, 556–558 (1945).

食品の鮮度測定法に関する研究—XI.

水蒸気蒸留法によるサバ肉の揮発性還元物質の定量法

富山哲夫・池浦一也・大山重信

(1959 年 7 月 29 日受理)

STUDIES ON THE METHOD FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—XI. DETERMINATION OF VOLATILE REDUCING SUBSTANCES OF MACKEREL FLESH BY STEAM DISTILLATION

Tetsuo TOMIYAMA, Kazuya IKEURA and Shigenobu ŌYAMA*

In the VRS determination by STROHECKER's method difficulties were experienced due to foaming in the distillation and due to tediousness in removing protein coagulum adhered to distillation flask. Data in Table 3 clearly indicate that volatile reducing substance (VRS) can be determined on an extract as well which is freed from protein by magnesium sulfate. So, the above trouble can be easily removed by employing this extract.

Since it has been found that both neutral and basic volatile reducing substances were increased at incipient spoilage (Fig. 2), the steam distillation of the extract is to be carried out in alkaline reaction (about pH 9.3). This improvement in the method gives rise to a more pronounced increase in VRS at incipient spoilage. Data illustrated in Fig. 3 demonstrate that VRS is, among several chemical indices, the most sensitive one for bacterial spoilage of the mackerel flesh.

The present method in which six-minute distillation followed by 5-minute boiling with potassium permanganate is employed, enables us to run six determinations with a single apparatus within one hour.

食品の化学的鮮度判定法には揮発酸 (VA と略記), 揮発性塩基 (VBN と略記), トリメチルアミン (TM と略記), pH, 昇汞沈澱反応, チロシン, チラミン, ヒスタミン, 酸化還元電位, 揮発性還元物質 (VRS と略記) 等の定量値が利用されている。これらの内で VRS についての研究をみると, 肉の水蒸気蒸留物の $KMnO_4$ 消費量が鮮度の判定に利用できることが初めて 1937 年に STROHECKER 氏等[1]によつて報告され, その後 1944～1956 年に FARBER 氏等[2]は獣肉および魚肉圧搾汁を常温で通気して VRS を定量する方法を発展させ, VRS は VBN, TM および VA の値よりも腐敗初期に急激な変化を示すことを発表した。富安氏等[3]は 1952 年に STROHECKER 氏等の方法を追試した結果, 供試魚肉の VRS は VBN よりも鋭い変化を示すことを確かめた。

著者等の一人 (富山)[4]はクロルテトラサイクリンによるサバの鮮度保持の研究において, 官能検査では初期腐敗とみられる場合でも VBN が 20 mg% 程度に過ぎなかつたことを観察した。因つてサバの場合の鮮度の官能検査の結果と平行する客観的指標として VRS が役立つかを検討してみた。本研究では硫酸苦土で除蛋白した液を酸性, アルカリ性および中性としてそれぞれ減圧および水蒸気蒸留することによつて揮発成分を酸性, 塩基性および中性区分に分別し, それらのいずれが鮮度低下に関係が深いかを検討した。その結果, VRS 増加の初期には中性および塩基性物質が増加し, 酸性物質の増加は多少遅れることを認めた。これらの検討を基礎として従来の VRS の定量法を改良したのでここに報告する。

---

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ.).

研　究　方　法

1. 研究材料

サバは市場より求めたもので，肉のみを採つて肉砕器に数回かけて細砕したものを使用した。貯蔵中の変化をみるには，砕肉を数個のポリエチレンの袋に入れ，3～9°C の冷蔵庫に保存し，毎日一つの袋の内容を供試した。

除蛋白剤には富山等[5]が VA の定量に用いた硫酸々性の硫酸苦土の濃厚溶液を用いた。すなわち 600 g の $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ を蒸溜水で 1 l とし，これに 20 cc の 6 N 硫酸を加えたものである。

2. 定量方法

A. pH: 細砕した供試肉を蒸溜水で約 10 倍に稀釈し，ガラス電極（日立製 EHP-1 型 pH 計）を用いて pH を測定した。

B. VBN: CONWAY の微量拡散法[6]によつた。この場合のビュレットには富山のミクロビュレット[7]を用い，また滴定中の攪拌には magnetic stirrer を用いた。

C. Histamine の定量: 津田，富山の方法[8]により定量した。ただしアンモニヤを除去していないので，多少過大値を示す。

D. VRS の新定量法

（1） 試料の調製: 充分に細砕混和した供試肉の 10.0 g に蒸溜水 20 cc を加えて乳鉢で充分に抽出し，つぎに除蛋白剤 70 cc を加えてミックサーに移し，短時間（約 10 秒）混和してから沪過する。透明な沪液 25 cc (2.5 g の供試肉に相当) を水蒸気蒸留にかける。

（2） 水蒸気蒸留および滴定: 除蛋白液の 25 cc を富山等[9,10]が硫化水素および揮発性塩基の蒸留に用いた装置の蒸留部にとり，5% NaOH の 5 cc を加えた後，水蒸気を通ずる。他方，冷却管の先端は 200 cc 容の三角フラスコにいれた 0.1 N $KMnO_4$ の 10 cc と 20% NaOH の 10 cc との混液に浸し，留出液が 50 cc になるまで蒸留を続ける。約 6 分間を要する。つぎに三角フラスコを電熱器上で沸騰後 5 分間保ち，5 cc の 10% KI を加える。これを流水中で充分に冷却した後，5 cc の硫酸（1: 2）を緩やかに振盪しながら加え，直ちに 0.1 N $Na_2S_2O_3$ の 10 cc を加えて沃度を除き，つぎに約 0.2 cc の 1% 可溶性澱粉液を加え，0.05 N KHI_2O_6 で青紫色の沃度澱粉反応が生ずるまで滴定する。なお供試肉抽出液の代りに硫酸苦土溶液と蒸溜水との混合液 (7: 3) の 25 cc を試料として，肉抽出液と全く同様に操作して盲検値を毎日求める。

（3） VRS の計算: VRS 値の計算は次式[1]による。

$$\frac{(T-B) \times 0.05 \times 1{,}000}{2.5} = \text{VRS},\ \mu e/g\ \text{tissue} \quad \cdots\cdots(1)$$

T = Titer of 0.05 N KHI_2O_6 (cc)

B = Blank value (cc)

E. 蒸留物中に存在する酸性，中性および塩基性還元物質の定量法

D (1) 項に記載した方法で調製した除蛋白抽出液を酸性のまま pH 2 で蒸溜した時の還元性物質の値（A + N）を求め，つぎに蒸留残液に 5% NaOH の 5 cc を加え，新らしい $KMnO_4$ 液をもつ受器に換えてから蒸留した時の還元性物質の値 (B) を求める。また，蒸留順序を逆にし，まずアルカリ性で蒸留した時の還元性物質の値（B + N）および蒸留残液を酸性とした時の還元性物質（A）を求める。また別に除蛋白抽出液を予め中和してから蒸留した時の還元性物質の値（N）を求める。これらの結果から VRS を構成する酸性物質（A），塩基性物質（B）および中性物質（N）をそれぞれ算出できるし，また（N）の値を（A + N）− A および (B + N) − B の値から求めて直接に定量した (N) の値と対比することもできる。

研　究　結　果

1. VRS の蒸留速度

定量法の項に記した条件において VRS がどの程度の速度で蒸留されるかをみた結果は，Table 1 に示す

Table 1. Rate of distillation of VRS[1].

Time of distil. (min.)	Titer of 0.05 N KHI_2O_6 (cc.)	Per cent distilled	Volume of distillate (cc.)
2	3.56	92	13
4	0.32	8	31
6	0		51
8	0		70
10	0		90

1) Sample used was a deproteinized mackerel flesh extract.

Table 2. Rate of reaction between $KMnO_4$ and VRS.

Time of boiling (min.)	Titer of 0.05N KHI_2O_6 minus blank value (cc.)	Per cent oxidation of VRS
2	1.65	91.7
4	1.73	96.1
6	1.78	98.9
8	1.79	99.4
10	1.80	100

ように，蒸留液 30cc に全部留出し，蒸留開始後 4 分間で完了した。

2. VRS の量と $KMnO_4$ 消費量との関係

蒸留液中の VRS と $KMnO_4$ との反応速度について実験した結果は Table 2 にみられるように，煮沸開始後 6 分で完了したことを示す。

VRS の量と $KMnO_4$ 消量量との量的関係は Fig. 1 に示すように，0.1N $KMnO_4$ の 10cc を用いた場合に両者が直線関係を示す範囲は $KMnO_4$ の量が約 15% 還元されるまで，すなわち盲検値を控除した 0.05N KHI_2O_6 の滴定値として 3cc までであつて，それ以上の VRS が存在すると直線関係からそれる。しかし VRS の対数値と 3cc 以上の $KMnO_4$ 消費量との間には直線関係が保たれる。したがつて蒸留液の $KMnO_4$ 消費量が 3cc，すなわち 150 μe 以上であつた場合には，除蛋白剤と水 7：3 の混合液で抽出液を適当に稀釈してから蒸留をやりなおすか，あるいは富山[11]が水の $KMnO_4$ 消費量の定量の場合に用いたような方法で補正せねばならない。すなわち Fig. 1 に示す曲線の直線部の傾斜を図から求めると，

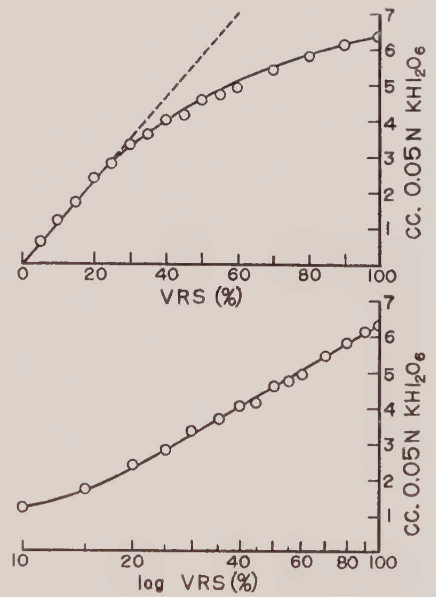


Fig. 1. Relationship between VRS and titer of 0.05N KHI_2O_6.

$$\tan\theta = \frac{p-3.00}{\log 100 - \log x} \doteqdot 5.9$$

p = apparent $KMnO_4$–consumption of a sample extract.

x = per cent VRS corresponding to a level of 3cc of 0.05N $KMnO_4$, which is obtained to be 27% from data presented in Fig. 1.

Since P is equal to $\frac{3\times 100}{x}$, where P, corrected value,

$$\log 100 - \log\frac{3\times 100}{P} = \frac{p-3.00}{5.9}$$

$$\log P = 0.17p - 0.032 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

(2) 式を用いると，消費量 3cc 以上の場合の定量値 p から VRS に正比例した消費量 P を算出することができる。

3. 生肉の VRS と抽出液の VRS との比較

Strohecker 法のように生肉を直接に水蒸気蒸留した時の VRS と肉の除蛋白抽出液について求めた

Table 3. Comparison between values for VRS which were distilled from ground flesh and deproteinized flesh extract.

Sample	Days of storage at 3~9°C.					
	0[a]	1[b]	2[c]	3[d]	4[e]	5[f]
pH of ground mackerel flesh	5.84	5.95	6.04	5.94	6.04	6.04
Ground mackerel flesh	6.00	12.0	37.6	106	133	144
Extract of the flesh adjusted to pH 6.0	9.00	2.80	21.4	108	108	124
Ground flesh + $MgSO_4$ (pH 1.98)	7.00	11.6	29.8	98	105	101
Extract of the flesh (pH 1.98)	11.4	4.00	12.6	86	86	100
Ground flesh + $MgSO_4$ + NaOH*	27.2	27.2	95.6	163	182	195
Extract of the flesh + NaOH*	11.0	11.6	67.0	161	174	198

0[a]: fresh. 1[b]: no change. 2[c]: slight fishy odor, slight rancid odor. 3[d]: strong fishy odor, stale. 4[e]: slight putrid odor. 5[f]: putrid odor. * pH 9.3.

VRS との間にどの程度の差があるかについて検討した。肉の抽出液を調製するには，三塩化酢酸はアルカリ性で加熱すると分解するために使用できないので，富山等[5]が VA の定量に用いた除蛋白剤，即ち微酸性とした硫酸苦土の濃厚溶液を用いた。生肉と除蛋白抽出液を供試した時の比較結果は Table 3 に示す通りである。抽出液を中性，酸性およびアルカリ性で蒸留した場合の VRS 値は，肉そのもの，肉に硫酸苦土を加え酸性としたもの，およびアルカリ性としたものからの VRS 値よりそれぞれ僅かに低かつた。しかし硫酸苦土による除蛋白抽出液をアルカリ性 (pH 9.3) で蒸留した時の VRS は生肉そのままを蒸留した時の VRS と同様に初期腐敗の様相をよく示した。また前者の値の方が後者よりも大きいので，実験誤差の影響が小さい。なお，生肉を直接に水蒸気蒸留する場合の発泡，容器を清浄に保つことの困難等を考慮に入れると，抽出液を用いた方がよいといえる。

4. 酸性，アルカリ性および中性で留出した VRS の鮮度低下に伴う変化

VRS を構成している成分を粗分画し，それらの変化をみた上で蒸留の条件を決定しようと考え，定量法の項で示したように，鮮度の異なる肉の抽出液を種々の酸度あるいは塩基度に調整して蒸留してみた。サバ肉の貯蔵中におけるこれらの値の変化は Fig. 2 に示す通りである。すなわち酸性物質の増加はきわめて少ないのに反し，塩基性物質は1日後から，また pH 6 で留出する中性物質は2日後から著るしく増加し，両者の割合は大略 1:1 であつた。

水蒸気蒸留と減圧蒸留とを比較した結果は Table 4 に示すように，いずれの蒸留法によつても酸性物質の増加が著明になるのは初期腐敗の徴候を過ぎてからであつたのに対し，塩基性物質および中性物質の増加は初期腐敗の時期に著明であつた。したがつて定量の誤差を少なくする目的から塩基性および中性物質を併わせ定量できるように，抽出液をアルカリ性 (pH 9.3) として蒸留するように定量法を定めた。

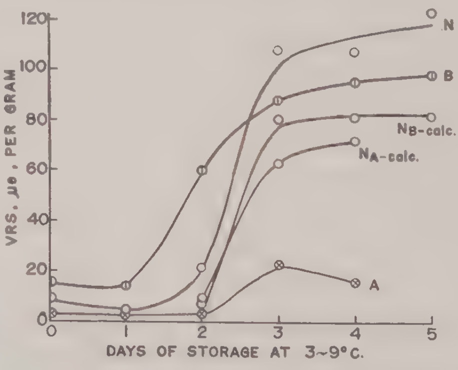


Fig. 2. Increase with storage of ground mackerel flesh in amount of neutral, basic and acidic substances in a steam distillate of the flesh. N: neutral substances which are steam-distilled from the extract of pH 6.0. B: basic substances steam distilled from the extract of pH 9.3. $N_{B-cal.}$: (B+N) −B. See foot-note of Table 4. $N_{A-cal.}$: (A+N) − A. See foot-note of Table 4.

Table 4. Change in VRS when deproteinized extract was distilled at acid, alkaline and neutral reaction.

Kinds of distillate		Days of storage at 4～8°C.					
		0	1	2	3	6	10
Distil. by steam	A+N*	3.0	4.7	5.2	16.8	82	83.5
	B§	3.1	9.9	21.2	102	123	133.5
	N†	4.1	9.9	7.1	–	83.5	88.0
	B+N††	4.1	10.4	22.9	114	197	245
	A**	2.1	1.3	1.2	5.4	15.0	19.5
Distil. under reduced press.	A+N	11.0	11.0	13.0	19.3		
	B	4.50	7.7	16.3	23.5		
	N	2.90	3.3	7.5	23.8		
	B+N	4.30	9.1	12.1	51.2		
	A	2.10	2.5	7.7	6.3		

* A+N: acidic and neutral substances which are distilled off from acidic reaction. § B: basic substances which are distilled off from alkaline reaction following the distillation of A+N. † N: neutral substances distilled off from neutral reaction (pH 6.0). †† B+N: basic and neutral substances distilled off from alkaline reaction. ** A: acidic substances distilled off from acidic reaction following the distillation of B+N.

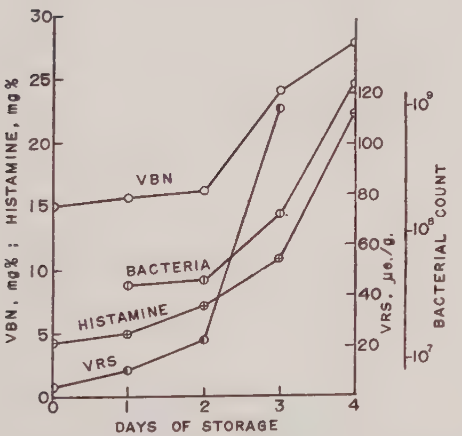


Fig. 3. Increase in VRS, VBN, histamine and bacterial count in ground mackerel flesh with storage at 4～8°C.

5. 鮮度低下に伴う VRS 値の変化と VBN，ヒスタミン量および細菌数の変化との相関

細砕したサバ肉をポリエチレンの袋に入れて 4～8°C に放置中における鮮度の変化を本法による VRS，CONWAY 法による VBN，津田・富山法によるヒスタミン量，細菌数および官能検査により追跡した。その結果は Fig. 3 に示す通りである。この結果からみると，少なくともサバの場合には約 30 μe の VRS 値によつて腐敗の初期が鋭敏に捕捉できるようである。しかし VBN の 30 mg% によつては腐敗の初期は検知できない。

考　　察

STROHECKER 氏等による VRS の定量に当つての難点は生肉を試料とすることにあり，FARBER 氏等による VRS の定量の難点は肉の圧搾汁を調製することの困難さにある。これらの場合にはいずれも発泡が甚しく，生肉の場合には蒸留器に附着した蛋白質を毎回除去洗滌することが面倒である。本研究の結果では生肉の VRS はその肉を微酸性の濃厚硫酸苦土溶液で除蛋白した沪液に大部分集まることがわかつたので，この抽出液を定量に用いることによつて操作が簡単となつた。

STROHECKER 氏等は肉の水蒸気蒸留物中にアルデヒド反応を示す物質はほとんどなく，ケトンが時々検出されたと報告している。しかし揮発性物質の性質について検討した報告はない。本研究から分かることは酸性で6分間水蒸気蒸留した物のなかには還元性物質は少なく，むしろアルカリ性で蒸留したもののなかに還元物質が多い。アンモニヤはアルカリ性 $KMnO_4$ と反応しないから，塩基性の VRS は TM のような炭素をもつ物質に違いない。Table 3 をみると，生肉をアルカリ性として蒸留した時の VRS は除蛋白抽出液を同様にアルカリ性とした時の値に比らべて高いことが注目される。これは富山[10,12]が生肉の水蒸気蒸留あるいは通気により VBN を測定した場合に，同一肉の三塩化酢酸抽出液よりも常に高い値をえた事実と類似している。これらの事実から生肉はアルカリ性で加熱すると還元性塩基物質を遊離することが窺がえる。

また興味の多いことは中性で留出する還元物質が腐敗開始時に増加することである。また腐敗がさらに進行しても中性物質の増加率は初期腐敗時のそれに比らべると著るしく小さくなることも注目に値する。この中性物質の種類およびそれらの母体については今後の研究にまたねばならない。STROHECKER 法および FARBER 法では中性附近で蒸留あるいは通気しているので，主として中性物質の増加量を鮮度判定の指標としていることは明らかである。本法では試料抽出液をアルカリ性として蒸留し，塩基性および中性の還元性

物質を一緒に定量して成るべく高い VRS 値を求め，鮮度判定の誤差を少なくするように方法を決定した。

本定量法の条件における VRS の蒸留速度は STROHECKER 氏が蒸溜液 30 cc について定量していることの正しさを裏書きしている。VRS 量と $KMnO_4$ 消費量との関係についての代表的例では，用いた $KMnO_4$ の 15% 以上消費した場合には補正すべきことを知つたが，この関係は VRS を構成する化合物により異なるであろうから，種々の試料肉および腐敗度のものでさらにこの関係を確かめる必要があろう。STROHECKER 法の操作は本定量法によつて簡易化されたので，少なくとも 6 つの定量を一人で一つの装置を用い 1 時間以内に実施できることは特記に値する。

サバ肉の鮮度低下に伴う VRS の変化を細菌数，VBN およびヒスタミン量の変化と対比すると，腐敗の初期は VRS の 30 μe で示されるようにみえる。しかし 6 カ月冷凍貯蔵したメバチマグロの筋肉について VRS を最近測定したところ，背部，腹部いずれの肉においても VRS は平均 4〜8 であつたが，血合肉だけが 53〜120 (平均 88) を示した。この高い値は血合肉の正常な代謝物なのか，死後酵素分解によつて生じたものか，あるいは死後血管を経て侵入した細菌によるものかについては今後の研究にまたねばならないが腐敗の初期を知るための VRS 値を設定するに当つては魚種や組織の種類による VRS の差異をも考慮に入れる必要がある。

総　　括

STROHECKER 氏等の VRS 定量法における操作上の難点を検討してつぎのような結果をえたので，それらに基ずいて改良法を提出した。

1. 腐敗の開始を示す VRS は中性物質と塩基性物質とからなる。STROHECKER 氏等の方法では中性物質のみを定量しているが，本法では塩基性物質もともに定量できるようにした。
2. 水蒸気蒸留には肉を直接に用いないで，硫酸苦土による除蛋白抽出液を用いるよう改良した。
3. 水蒸気蒸留時間は 6 分，$KMnO_4$ 液との反応時間は 5 分で充分であつた。
4. VRS の値は酸化に用いた $KMnO_4$ の 15% 相当の範囲だけが消費量と比例した。
5. サバ肉を低温に貯蔵中の鮮度低下の模様を VRS，VBN，ヒスタミンおよび細菌数によつて追跡した結果，VRS が腐敗の開始期を知るのに適していることを知つた。

本研究を行なうに当り，津田　厚，滝　武および衣斐　剛の諸氏の助力を得たので，ここに謝意を表したい。

文　　献

1) STROHECKER, R., VAUBEL, R., and KIRCHBERG, H.: *Z. Anal. Chem.*, **110**, 1 (1937).
2) LANG, O. W., FARBER, L., BECK, C., and YERMAN, F.: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **16**, 490 (1944). FARBER, L.: *Food Technol.*, **3**, 300 (1949). ―――: *ibid.*, **6**, 319 (1952). FARBER, L., and FERRO, M.: *ibid.*, **10**, 303 (1956).
3) 富安行雄・豊水正道・高橋喜久雄: 九州大学農学部学芸雑誌，**12**，391 (1952).
4) 富山哲夫・米　康夫: 本誌. **25**，290 (1959).
5) TOMIYAMA, T., ANTONIO, A. DA COSTA, and STERN, J. A.: *Food Technol.*, **10**, 614 (1956).
6) CONWAY, E. J.: Micro-diffusion analysis and volumetric error, Rev. ed., 1947, D. Van Nostrand Co., Inc., New York.
7) 富山哲夫: 日農化，**13**，1007 (1937).
8) 津田　厚・富山哲夫: 本誌. **25**，451 (1959).
9) 富山哲夫・神崎嘉瑞夫: 本誌，**17**，115 (1952).
10) 富山哲夫・井出克己・秋山　勉: 本誌，**17**. 191 (1952).
11) 富山哲夫: 陸水雑，**8**，314 (1938).
12) 富山哲夫: 本誌，**17**，405 (1952).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—IV.

腸球菌に好適な発育培地

堀 江 進

(1959 年 8 月 3 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—IV. NUTRIENT MEDIUM SUITABLE FOR THE GROWTH OF ENTEROCOCCI

Susumu HORIE*

For the purpose of obtaining an optimum medium for the growth of enterococci, the influences of the compositions of medium on the growth of said organisms were investigated. The enterococcal strains grew fairly well in a tryptose medium (tryptose 2%, dextrose 1.5%, NaCl 0.5%, K_2HPO_4 0.3%, KH_2PO_4 0.3%, pH 7.0); however, the growth of these strains were considerably suppressed in a modified medium in which "polypepton" (Daigo Co.) was used in place of tryptose. Simultaneous addition of both citrate (1% as Na-citrate·$2H_2O$) and 0.5% of yeast extract (or vitamin mix) to the polypepton medium remarkably enhanced the growth of enterococci, this enriched medium being superior to the tryptose medium. Although polypepton was inferior to tryptose as a source of nutrition for the growth of enterococci, it was demonstrated that said inferiority is caused mainly by the lack of some vitamins and independent of the contents of amino acid.

緒 言

飲食品の汚染指標としての腸球菌の意義を検討するためには，まず本菌の適確な検出法を確立しておく必要がある。腸球菌の検出培地としては，HAJNA および PERRY[1] の SF 培地，Difco manual[2] に記載されている WINTER および SANDHOLZER の検出培地，さらに近くは，LITSKY 等[3] のエチルバイオレットを利用した検出培地をはじめ，幾つかの報告があるが，それらの方法による腸球菌の定量的測定値は甚だまちまちで，正確度もまた様々である。著者[4] が比較的優れた検出法とされている LITSKY 等の方法について追試を行つた経験によれば，特に飲食品を対象とした場合には，本菌検出の正確度において，未だ不満足なものとみとめた。凡そ特定の細菌だけを撰択培養する培地としては，該菌の発育には好適であり，接種した細胞の状態の如何にかかわらず発育を惹起し，かつ充分に発育させる一方，同時に接種された他種細菌の増殖を阻止し得るところの特異性が要求される。したがつて，一般に，腸球菌検出培地は，本菌の好適な発育培地となるべき組成に，さらに他菌種に対しての適当な制菌剤を添加することによつて撰択性が与えられている。このような意味から，検出培地を導きだす前提として，まず腸球菌に特に好適な発育培地を考按することは重要なことと考えられる。従来知られている方法の中，LITSKY 等の検出培地の組成から制菌剤を除いた基礎組成の部分は，腸球菌の好適な発育培地となり得るものであるが，本培地には多量の tryptose (Difco) が使用されており，実用上は価格等の点でも問題がある。しかしまた，これを国産のポリペプトンで代用した場合には，本菌の発育度に著しい低下がみとめられる。

著者は LITSKY 等の培地組成を中心として，腸球菌の発育度と培地の組成との関係について種々検討し

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

た。その結果，tryptose の代りにポリペプトンを使用しても，他に若干の栄養源を補うことにより，LITSKY 等の培地よりも，さらに腸球菌の発育度を高め得るような培地組成を見出だしたので報告する。

実験材料および方法

培地の組成に用いた材料

ポリペプトン (大五栄養化学)，tryptose (Difco)，proteose peptone No. 3 (Difco)，酵母エキス (Difco)，肉エキス (ミクニ化学産業)，カゼイン酸分解物 (Difco) のほかトリプトファン (和光純薬)，ビタミン類 (東京化成，特級)，プリンおよびピリミジン塩基 (東京化成，特級)，ブドウ糖および数種の塩類を使用した。

培地の調製

所要の組成分を蒸溜水に溶解し，NaOH で pH 7.0 に修正した後，10 ml 宛試験管に分注し，15 ポンドで，15 分間滅菌した。

接種ならびに培養

使用した腸球菌々株は，いずれも著者が分離した菌型の明かなものである。dextrose broth で 37°C に 24 時間培養したもの 1 白金耳を各培地の所要本数に接種し，37°C で一定時間培養した。

発育度の測定

培養経過中，発育度を測定する際には，各 1 本の試験管を取り出し，100°C で 10 分間滅菌した後，エルマの光電比色計により，660 mμ のフィルターを用いて濁度を測定した。実験結果を示した総ての表における数値は optical density ×100 を表わすものとする。

Table 1. Composition of the basal medium.

Polypepton	2%
Dextrose	1.5%
NaCl	0.5%
K_2HPO_4	0.3%
KH_2PO_4	0.3%

pH was adjusted to 7.0 with NaOH.

研究の基礎とした培地組成

本研究においては，Table 1 に示した培地組成を基礎組成として実験を進めた。

実　　験

Table 1 に示した基礎組成の培地における腸球菌の発育度は低かつたので，これを種々改変することによつて，本菌の発育度をできるだけ高めるべく検討を進めた。

実験 1. 基礎組成に対し，種々の物質を添加または置換した場合の発育増進効果

Table 2 に示すように，基礎組成のポリペプトンの代りに，tryptose あるいは proteose peptone を用いたり，また基礎組成に 1 種または数種の物質を添加したりすることにより，種々の培地をつくつて，腸球菌を接種培養した。供試菌は 3 株で，Y 137 (type I) では 65 時間にわたり，T 21 (type II) および N 19 (type III) では 24 時間にわたつて培養し，培養経過における発育度を比較観察した。

Table 2 に示すように，培地組成が異るにしたがつて，発育度にかなりの差異が見られた。T 21 および N 19 の実験結果によれば，6 時間培養では[illegible]を含む培地および proteose peptone No. 3 を用いた培地では，発育の[illegible]。9 時間培養で[illegible]すように，培養の初期においては，酵母エキスを添加した培地で最も高い発育度を示し，一方クエン酸ソーダ含有培地および proteose peptone No. 3 使用の培地では，反対の結果が得られた。11.5 時間では，一般に発育度はそれぞれの培地の最高値に達し，[illegible]なかつた。ただし，クエン酸ソーダ含有培地のみは，その後において，大きく濁度を増大した。3 種の実験を通じて，ポリペプトンを用いた基礎組成培地は，tryptose 使用の培地に比べ，[illegible]，特に T21 type II）の場合には小さく，他の 2 株の場合に比較的著しかつた。基礎組成にアミノ酸類，肉エキス，クエン酸ソーダをそれぞれ単独に添加した場合には，顕著な発育増進効果は見られなかつたが，酵母エキスあるいはビタミン類の添加は相当有効であることを認めた。10 のアミノ酸類，ビタミン類，クエン酸ソーダ，プリンおよびピリミジン塩基を全部添加した培地では，tryptose 使用培地を凌ぐ最高の発育度が得られた。

Table 2. Growth responses of enterococcal strains to various modifications of the composition of basal medium.

Substance added to basal composition \ Strain / Hrs. of incubation	Y 137 (type I)				T 21 (type II)				N 19 (type III)			
	14	23	40	65	6	9	11.5	24	6	9	11.5	24
1. Basal composition	15	15	17	17	SG***	19	25	26	SG	11	14	14
2. Tryptose 2%*	35	37	41	42	SG	12	37	37	SG	10	38	38
3. Proteose peptone No. 3 2%*	30	30	32	35	NG***	3	27	29	SG	7	34	39
4. Yeast ex. 0.5%	33	34	41	42	SG	25	32	32	SG	18	31	35
5. Meat ex. 0.5%	22	23	28	30	SG	20	21	21	SG	14	17	18
6. Amino acid mix**	14	15	18	20	SG	11	25	28	SG	10	14	16
7. Vitamin mix**	29	29	33	36	SG	15	27	30	SG	12	27	29
8. Na-citrate·$2H_2O$ 2%	13	18	20	20	NG	5	19	31	NG	4	8	17
9. Amino acid mix and vitamin mix**	30	34	36	39	SG	17	33	33	SG	14	29	31
10. Amino acid mix, vitamin mix, Na-citrate·$2H_2O$ (2%), purine and pyrimidine bases**	43	45	47	47	NG	5	17	45	NG	2	5	45

* Tryptose or proteose peptone was used in place of "polypepton".
** Amino acid mix: 0.5% acid hydrolysed casein and 0.02% *dl*-tryptophane.
Vitamin mix: Each 1 ppm of Ca-pantothenate, nicotinic acid and riboflavin, 0.2 ppm of pyridoxal HCl, *p*-aminobenzoic acid, and 0.01 ppm of biotin and folic acid.
Purine and pyrimidine bases: Each 10 ppm of adenine $H_2SO_4 \cdot 2H_2O$, guanine $HCl \cdot 2H_2O$, uracil and xanthine.
*** SG: slight growth. NG: No growth.

実験 2. 発育増進の有効物質の追求

実験1の結果から，基礎組成にアミノ酸類，ビタミン類，クエン酸ソーダ，プリンおよびピリミジン塩基を添加した場合，腸球菌の発育度を著しく高め得ることを見出だしたが，この発育増進効果が，これらの添加物質の中，如何なる組合わせによるものであるかを確めるため，Table 3 に示すような種々の組合わせでこれらの物質を基礎組成に添加した培地をつくり，前実験と同様の方法で，Y137 の 24 時間培養における発育度を比較した。また trpytose 使用の培地ならびに酵母エキスを添加した培地についても，同時に比較観察した。添加した各物質の濃度は，Table 2 の場合と同一にした。実験の結果を Table 3 に示す。

Table 3 に示した結果から，添加物質の発育増進効果について，つぎの事実を明かにした。

1. アミノ酸ならびにプリンおよびピ

Table 3. Effect of various substances on the growth of enterococcal strain, Y 137.

Added substance to basal composition	Growth
1. Basal composition	14
2. Tryptose*	36
3. Yeast ex., citrate** and bases**	44
4. Yeast ex. and citrate	43
5. Yeast ex.	34
6. Amino acids**, vitamins**, citrate and bases	43
7. Vitamins, citrate and bases	43
8. Amino acids, citrate and bases	14
9. Amino acids, vitamins and bases	33
10. Amino acids, vitamins and citrate	40
11. Citrate and bases	14
12. Vitamins and citrate	42
13. Vitamins and bases	33
14. Amino acids and citrate	16
15. Amino acids and bases	22
16. Amino acids and vitamins	35

* Tryptose was used in place of polypepton.
** Citrate: Na-citrate.
Bases: purine and pyrimidine bases.
Amino acids: amino acid mix.
Vitamins: vitamin mix.

リミジン塩基の添加は顕著な効果がない。

2. ビタミン類ならびに酵母エキスの添加は，かなり有効であるが，ビタミン類（または酵母エキス）とクエン酸ソーダとをともに添加した場合には，さらにその効果は著しく，tryptose 使用の培地を凌ぐに至る。

3. クエン酸ソーダはビタミン類（または酵母エキス）とともに添加した場合でなければ無効である。

実験 3. 発育増進に有効なビタミンの追求

前述のごとく，基礎培地にクエン酸ソーダを添加しても，発育増進効果はほとんど見られないが，これにさらにビタミン類（または酵母エキス）を添加した場合には，著しく発育度が高められたので，つぎにこの7種のビタミンのうち，なにが有効であるかを確めるために，基礎組成に前記と同じ濃度でクエン酸ソーダおよび7種のビタミンを加えたものを基礎培地とし，これを対照とし，本組成から各ビタミン1種宛の添加を欠いた7種の培地ならびにいずれのビタミンをも添加しないものと，合計9種の培地をつくり，Y 137 の 24 時間培養における発育度を比較した。実験の結果を Table 4 に示す。

Table 4. Influence of the addition of vitamins to a medium on the growth of the enterococcal strain, Y 137.

Vitamin selectively made deficient	Growth
Pantothenic acid	25
Nicotinic acid	37
Riboflavin	14
Pyridoxal	41
p-Aminobenzoic acid	43
Biotin	43
Folic acid	37
All these vitamins	17
None of these vitamins (Control)	42

Table 4 に示したように，リボフラビンを添加しない場合，最も著しく発育が阻害され，パントテン酸を添加しない場合がこれについでいる。ピリドキサール，パラアミノ安息香酸およびビオチンの添加は発育に無関係であり，ニコチン酸および葉酸では多少の影響がみられた。この実験の結果から，腸球菌の充分な発育のためには，ポリペプトンはビタミン源として，特にリボフラビンおよびパントテン酸に不足していることを認めた。

実験 4. 培地組成の各成分の濃度の検討

以上の実験経過から，基礎組成に Na-citrate·2H_2O 2% および酵母エキス 0.5% を添加した組成の培地で，Y 137 の発育度がきわめて高いことを認めた。つぎに，この組成におけるポリペプトン，ブドウ糖，クエン酸ソーダ，酵母エキスおよび燐酸塩の濃度を変えた場合の発育度におよぼす効果について，Y 137 を用いて検討し，つぎのような結果を得た。

1. ポリペプトン： 3% 以上に増加しても，ほとんど発育増進効果なく，1.5% 以下では，明かに発育度が低下するので，2% を至適濃度と認めた。

2. ブドウ糖： 2% 以上，あるいは 1% 以下では，発育度の低下が見られ，1.5% を至適濃度と認めた。

3. Na-citrate·2H_2O： 1% および 2% の場合の発育度がほぼ同程度で，かつ最高値を示したので，採用すべき濃度としては，1% が適当であることを認めた。

4. 酵母エキス： 0.5% から 1% に増加しても，ほとんど発育増進効果がないにもかかわらず，0.25% 以下では，かなり発育度の低下が見られるので，0.5% を至適濃度と認めた。

5. 燐酸塩： 両燐酸塩を全く添加しない場合でさえ，発育に対する甚だしい影響は現われないが，0.3% 程度の添加が最も有効である事を認めた。

Table 5. An enriched medium for the growth of enterococci.

Polypepton	2%
Dextrose	1.5%
Na citrate·2H_2O	1%
Yeast ex.	0.5%
NaCl	0.5%
K_2HPO_4	0.3%
KH_2PO_4	0.3%

Reaction was adjusted to pH 7.0.

上述の結果から，Y 137 の好適な発育培地として，Table 5 に示す組成の培地を導きだした。

実験 5. 本改良培地の多数腸球菌々株についての検討

Table 5 に示した培地は，腸球菌の特定菌株について導きだされたものである。本培地が一般腸球菌々株についても組成の改良された好適な発育培地であるか否かを検討するため，腸球菌の各 type を代表する 19

菌株について，本改良培地と，本培地の組成からクエン酸ソーダを除いた培地，クエン酸ソーダおよび酵母エキスを除いた培地，およびクエン酸ソーダ，酵母エキス，ポリペプトンを除き，その代りに 2% の tryptose を使用した培地等における，24 時間培養の発育度を比較したところ，全菌株を通じて，クエン酸ソーダおよび酵母エキスを除いた培地において，発育度は最も低く，これについで，クエン酸ソーダのみを除いた培地において低く，tryptose 使用の培地ならびに本改良培地では，ともに発育度は高かつたが，12 菌株については，後者の発育度が前者よりもまさつていた。以上の如き結果から，ポリペプトン使用の培地に酵母エキスおよびクエン酸ソーダを添加することにより，腸球菌の発育度を顕著に高め，tryptose 使用の培地を凌ぐ好適な発育培地となし得ることを認めた。

考　　察

本研究は培地の pH を 7.0，培養温度を 37°C に条件を定め，24 時間培養における腸球菌の発育度を，最も高め得る培地組成を見出だすことを目標として行なつたのである。腸球菌の発育が tryptose (Difco) を使用した培地では，きわめて良好であり，またポリペプトンを使用した培地では，発育度が著しく低下する原因について検討した。ポリペプトンの培地にビタミン類あるいは酵母エキスを添加すると，顕著な発育増進効果がみられたが，アミノ酸類の添加は，その効果がみとめられないという実験結果を得たので，これによつて tryptose とポリペプトンとの腸球菌の栄養源としての差異は，主として，その含有ビタミンにあつて，アミノ酸組成に無関係であることを明かにした。しかしポリペプトンの培地にビタミン類（または酵母エキス）を添加しても，なお tryptose の培地より若干発育度において劣つているが，この差異の原因については未だ明かでない。さらにビタミン類とともに，クエン酸塩を添加することにより，この差異がなくなり，むしろ tryptose の培地を凌ぐ発育良好な培地とすることができた。またクエン酸ソーダのみをポリペプトン培地に添加しても，発育度は僅かに増大するのみであるが，ビタミン類（または酵母エキス）とともに添加すれば，著しく発育増進がみられるので，ポリペプトンはクエン酸の代謝に関係するビタミンに不足していることが明かである。これらのビタミンの中で，Y 137（type Ⅰ）についての観察では，リボフラビンが最も著しく不足していることを認めた。腸球菌のうち，type Ⅰ ならびに Ⅲ はリボフウビンを要求し，type Ⅱ のみはリボフラビンを要求しないことを前報で明かにしたが，Table 2 に示した実験結果に見られるように，ビタミンを添加しない basal composition において，Y 137 (type Ⅰ) ならびに N 19 (type Ⅲ) では，リボフラビンが発育の制限因子となるせいで，発育度が著しく低いが，T 21 (tppe Ⅱ) では，リボフラビンが制限因子とならず，恐らくパントテン酸が制限因子となるのであろうが，この関係で発育度はそれ程低くならないのだと考えられよう。ポリペプトンにクエン酸塩および酵母エキス(ビタミン源として)を添加したところの Table 5 に示した組成の培地は，腸球菌の好適な発育培地であるので，本菌の検出培地の基礎的な組成として考慮する価値があろう。

摘　　要

腸球菌の発育に好適な培地組成を見出だす目的を以つて，培養温度 37°C，培地の pH 7.0 の条件で，本菌の発育度におよぼす培地組成の影響について検討した。tryptose 2%，ブドウ糖 1.5%，NaCl 0.5%，K_2HPO_4 および KH_2PO_4 各 0.3% の組成の培地は，腸球菌の発育にきわめて好適であるが，tryptose の代りに国産ポリペプトンを使用すると，発育度は著しく低下した。しかしポリペプトンに酵母エキス 0.5%（または数種のビタミン）を添加すると，相当に発育が増進され，さらにこれにクエン酸ソーダ (Na-citrate・$2H_2O$ 1%) を添加すると，一層発育度は高まり，tryptose を使用した培地を凌ぐ優れた腸球菌発育培地となることを明かにした。

終りに臨み，校閲を賜わつた東京水産大学関根隆教授に謹んで感謝の意を表する。また本研究の遂行に協力された同大学小泉千秋氏に深く感謝する。

文　　献

1) Hajna, A. A. and Perry, C. A.: *Am. J. Pub. Health*, **33**, 550 (1943).
2) Difco manual of dehydrated culture media and reagents, 9 th ed., p. 50, (1953).
3) Litsky, W., Mallmann, W. L., and Fifield, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **43**, 873 (1953).
4) 堀江　進: 本誌, **25**, 488 (1959).

かつお節だし中のイノシン酸および遊離アミノ酸の呈味効果について*

鴻巣章二・前田安彦・藤田孝夫

(1959 年 8 月 3 日受理)

EVALUATION OF INOSINIC ACID AND FREE AMINO ACIDS AS TASTING SUBSTANCE IN THE KATSUWOBUSHI STOCK

Shōji Kōnosu, Yasuhiko Maeda and Takao Fujita**

The role of inosinic acid and free amino acids in make-up of the taste of Katsuwobushi stock was surveyed by sensory tests. As shown in Table 1, several kinds of test solution were prepared on the basis of the analytical values of these ingredients reported in the previous papers[2,3] and tested by a panel of about twenty judges in paired comparisons. The results obtained may be summarized as follows:

The combination of inosinic acid and amino acids is judged to be more delicious than inosinic acid alone and to have a distinct meaty flavor fairly similar to that of the original stock. The amino acids, on the other hand, are almost tasteless in the concentration tested, but they clearly exert an enhancing effect on the taste of inosinic acid. The most abundant amino acid, histidine, reveals no such an effect, and the taste becomes considerably weak, if the other amino acids are omitted, though they are rather scanty in quantity. It seems probable from these results that the greater part of delicious and meaty flaver of the stock is attributed to inosinic acid, enhanced by the amino acids other than histidine.

No conclusive judgement is obtained in the comparison between histidine inosinate and sodium salt (Table 2), and this disagrees with the Kodama's view[1] that the organic salt is more delicious than the inorganic one.

かつお節は水産加工品のうちでも特に優れた風味を有し調味料として広く使用されている。古く小玉[1] がかつお節より分離したイノシン酸とヒスチジンとより塩をつくり，これが濃厚な旨味を有することを指摘して以来，かつお節の旨味の主成分はイノシン酸のヒスチジン塩であるとされて来た。その後かつお節の味についてはいくつかの報告があるが，いずれも単に呈味成分と思われるものの定量分析結果から間接的に味を論じているに過ぎず，またその分析値の信頼度も低かつた。そこで著者らは前報[2,3] のごとく精度の高い方法で味に関係が深いと考えられるアミノ酸とイノシン酸の分析を行ない，その組成と含量を再検討したが，今回はさらに進んでその分析結果をもとにして味覚試験を行ない，これらの物質がどのようにかつお節の味に関係しているかを調べてみた。以下その結果を報告する。

実験ならびに方法

アミノ酸およびイノシン酸　アミノ酸は G. B. I. 社製の L 型を使用した。ただしリヂンのみは塩酸塩を脱塩酸して用いた。

イノシン酸は市販のサバ筋肉より Marmur らの方法[4] にしたがつてバリウム塩として分離し 2 回再結晶後（収量約 0.06%）Dowex 50 (H 型) を用いてバリウムを除き水溶液の 250 mμ における吸光値より濃度を算出し（分子吸光係数 12800），適宜稀釈して用いた。

---

* 1959 年 4 月 3 日，日本水産学会大会において講演した。

** 東京大学農学部 (Lab. of Fish. Chem., Fac. Agr., The Univ. Tokyo).

イノシン酸ヒスチジン塩 (Fig. 1)　上述のごとく脱塩したイノシン酸水溶液に当量のヒスチジンを加え減圧濃縮して放置すると，無色長針状の結晶を析出する。これを 50% エタノールより2回再結晶して調製した。分析結果は次の通りで，ヒスチジンとイノシン酸のモル比 (1 : 1) は再結晶を繰返しても変らなかつた。

202°C で褐変，208°C で分解 (未補正)。

分析値：　物質 6.488 mg

　　イノシン酸 4.462 mg，ヒスチジン 1.913 mg

計算値：　($C_{10}H_{12}N_4O_8P \cdot C_6H_9N_3O_2$)

　　イノシン酸 4.488 mg，ヒスチジン 2.000 mg

分析値：　物質 6.432 mg

　　燐　0.401 mg，リボース 1.747 mg

計算値：　(同上)

　　燐　0.397 mg，リボース 1.705 mg

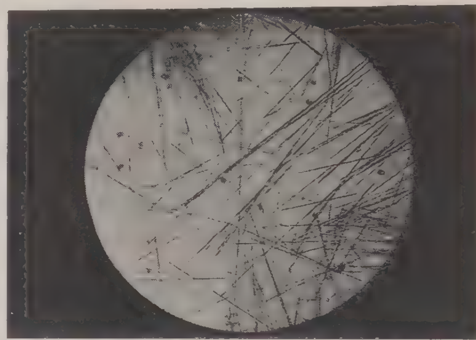


Fig. 1. Crystals of histidine inosinate. (× 150)

ただしイノシン酸は 250 mμ における吸光値より算出，ヒスチジンはニンヒドリン法[5]，燐は FISKE & SUBBAROW 法[6]，リボースは MEJBAUM 法[7] により定量した。

この塩は小玉の記載通りかつお節だしに似た濃厚な旨味を有する。

イノシン酸ナトリウム塩　イノシン酸バリウム塩の水溶液に当量の硫酸ソーダ水溶液を加え，生ずる硫酸バリウムを沪別，沪液を減圧濃縮して生ずる結晶を 70% エタノールより2回再結晶した。分析結果はつぎの通りである。これもヒスチジン塩と同様に旨味を有する。

210°C 附近で褐変 (未補正)。

分析値：　物質 6.844 mg　　燐 0.538 mg，リボース 2.388 mg

計算値：　($C_{10}H_{10}N_4O_8PNa_2$)　〃 0.540 mg，　〃　2.318 mg

試験液の調製　イノシン酸のヒスチジン塩が強い旨味を呈するということならびにヒスチジンが遊離アミノ酸の過半を占めること[2] を考慮して，イノシン酸，ヒスチジンおよびヒスチジン以外のアミノ酸の3つのグループに分け，これを種々組合わせて Table 1 のごとく試験液を調製した。各成分の濃度は本枯節の分析値[2,3] をもととしかつお節 (乾物) を 3% 使用しただし中の濃度に相当するようにした。また pH は塩酸または苛性ソーダで 5.8 に調節した[8]。

味覚試験[9]　試験室の設備，環境，被験者の識別能力など味覚試験法には種々問題はあるが，ここでは一応研究室員 20 名内外を被験者とし実験室内で試験を行なつた。試験法としては判定をできるだけ容易にするよう2つの試料を組にして比較するいわゆる2点比較法を採用し，「両者のうちどちらが美味か」を判定させ，ついでそれぞれの味について意見を述べさせた。被験者には試料について全く予備知識を与えず，また他の被験者と相談できぬよう個別に試飲させた。2つの試料の試飲順序は各自の選択に委せたが，大部分は順序を換えて2ないし3回比較していた。

結果ならびに考察

結果は Table 1 および Table 2 にあげたが，試験 1，2 および 4 では危険率 1% の検定で有意の差があると判定され，試験3および5では危険率 5% の検定で差があるとはいえないと判定された[9]。

試験 1.　まずアミノ酸のみの試料IIとそれにイノシン酸を加えた試料Iとを比較した。その結果は全員が一致してイノシン酸を含む試料Iの方が美味であると判定し，またほとんどすべての者が旨味を有すると述べた。これに反しイノシン酸を欠いたアミノ酸のみの試料IIについては約半数が味を感じないとし，また数人はごく淡い酸味または苦味を感じると答えた。したがつて試料Iの旨味はイノシン酸によるもので，アミノ酸はヒスチジンも含めて単独ではほとんど呈味効果がないものと判断される。

Table 1. Results of sensory test in paired comparisons.*

Test No.	Pair		Ranking	Number of judges		
				Male	Female	Total
1	(Ⅰ)	Inosinic acid+Amino acids	Ⅰ > Ⅱ	18	5	23
	(Ⅱ)	Amino acids**	Ⅰ < Ⅱ	0	0	0
			Ⅰ = Ⅱ	0	0	0
2	(Ⅰ)	Inosinic acid+Amino acids	Ⅰ > Ⅲ	14	4	18
	(Ⅲ)	Inosinic acid	Ⅰ < Ⅲ	1	0	1
			Ⅰ = Ⅲ	0	1	1
3	(Ⅰ)	Inosinic acid+Amino acids	Ⅰ > Ⅳ	5	2	7
	(Ⅳ)	Inosinic acid+Amino acids without histidine	Ⅰ < Ⅳ	4	3	7
			Ⅰ = Ⅳ	6	0	6
4	(Ⅰ)	Inosinic acid+Amino acids	Ⅰ > Ⅴ	12	5	17
	(Ⅴ)	Inosinic acid+Histidine	Ⅰ < Ⅴ	0	0	0
			Ⅰ = Ⅴ	3	0	3

* Two samples are presented simultaneously and each judge is requested to answer the question: "Which is the more delicious of the two ?"

The concentration (mg%) of each component is as follows; inosinic acid 19.0, histidine 90.9, taurine 10.8, lysine 2.6, alanine 1.6, glutamic acid 1.3, leucine 0.9, glycine 0.8, phenylalanine 0.6, valine 0.6, serine 0.5, threonine 0.5, isoleucine 0.4, proline 0.4, aspartic acid 0.3, methionine 0.3, and tyrosine 0.1.

The values are based on the analytical results given in the previous papers[2, 3] and represent the approximate concentration of each component in the stock prepared by using 3% of Katsuwobushi.

** Most of the judges stated that the sample II is almost tasteless.

Table 2. Comparison between histidine inosinate and sodium inosinate.*

Test No.	Ranking	Number of judges		
		Male	Female	Total
5	Na inosinate > Histidine inosinate	4	1	5
	Na inosinate < Histidine inosinate	6	4	10
	Na inosinate = Histidine inosinate	4	0	4

* The concentration is adjusted to 19 mg% as to inosinic acid and pH to 5.8. The testing method is the same as shown in Table 1.

試験 2. つぎにイノシン酸単独の試料Ⅲとこれにアミノ酸を加えた試料Ⅰとを比較した結果 20 名中 18 名がアミノ酸の共存する試料Ⅰの方が美味であるとし，1名のみが試料Ⅲをとり，残りの1名は差がないと答えている。またイノシン酸のみの試料Ⅲについては 13 名が旨味はあるが試料Ⅰより淡いとし，4名は味を感じないと述べ，2名はある種の味を感じるが旨味ではないと述べ，他の1名は意見を述べなかつた。

試験1および2の結果からアミノ酸単独ではほとんど味を呈しないが，これにイノシン酸が加わるとイノシン酸単独の場合よりも旨味が強く感じられることが明らかである。いい換えればイノシン酸の旨味はアミノ酸の存在により増強される。この意味でアミノ酸もまたかつお節だしの補助的呈味物質として重要な役割を有しているものといえよう。

試験 3 および 4. 前報[2]で示したように，かつお節エキスの遊離アミノ酸中約 80% がヒスチジンであり，また従来かつお節の呈味成分としてイノシン酸ヒスチジン塩が重視されているのでここでヒスチジンに焦点をおいて遊離アミノ酸の呈味促進効果を調べてみた。すなわちイノシン酸とヒスチジンを混合した試料Ⅴおよびイノシン酸とヒスチジン以外のアミノ酸とを混合した試料Ⅳの各々を試料Ⅰと比較した。

まずヒスチジンを欠いた試料Ⅳと試料Ⅰを比較した場合，前者を良いとする者，後者を良いとする者お

よび両者に差がないとする者がほぼ同数でヒスチジンの効果はほとんどないものと認められる。これに反しイノシン酸とヒスチジンのみの試料Vと試料Iとを比較すると，前者を良いとする者は全くなく，20名中17名が後者の方が美味であると判定している。この結果はアミノ酸の旨味増強効果はヒスチジンによるものではなく，むしろ量的には少ないがヒスチジン以外のアミノ酸によるものであることを示している。いずれのアミノ酸が味の増強上特に有効であるかは今後に残された興味ある問題である。

試験 5. 以上かつお節の旨味にヒスチジンは必ずしも必要でないことが判つたが，さらにイノシン酸ヒスチジン塩とイノシン酸ナトリウム塩の両者の味を比較してみた。試料はいずれもイノシン酸について 100 ml 中 19mg 含むよう調製した。結果は Table 2 のごとくでナトリウム塩の方が良いとする者および両者に差がないとする者の合計が約半数で，ヒスチジンが呈味に大きい影響をおよぼしているものとは考えられない。この結果は試験3の結果と相通ずるが，イノシン酸の無機塩より有機塩基との塩の方が遙かに強い味を示すという小玉の報告[1]とは相違する。

以上の結果を要約すればイノシン酸はかつお節だしに似た旨味を呈するが，アミノ酸は単独ではほとんど無味である。しかしアミノ酸とイノシン酸が共存するとイノシン酸単独の場合より旨味が強くなる。このアミノ酸の旨味増強効果はヒスチジン以外のアミノ酸によるものと思われる。

清水[10,11]は魚種および新鮮度による食味の差異とエキス中のイミダゾール化合的の含量およびその消長の関係を調べた結果から，ヒスチジンが赤味魚肉の味に深い関係をもつものと推測しているが，上記の結果とは相反する。なおヒスチジンのかなり濃厚な溶液 (0.5%) でも全く旨味のないことを別に確認した（ただしD-ヒスチジンはかなり強い甘味を示す)。

大石[12]および著者の1人[3]はかつお節の品等とイノシン酸含量との関係を調べ，いずれも一定の傾向がないと報告したが，前にも述べたようにかつお節の品等は必ずしも味だけで決められていないので，これはむしろ当然であろう。イノシン酸の含量が多ければそれだけ味が良くなることは容易に想像されるところであるが，上述の結果からみるとイノシン酸だけでなくアミノ酸の量と質もだしの味にまた大きな関連をもつものと考えられる。

さらに分析データをもとに作成したイノシン酸およびアミノ酸の混合液（試料I）の味は，かつお節だしの味に似ていて「魚のだしの旨味がある」と指摘した者が数名あつた。しかしだしは濃厚な味を感じさせるのに試料は著るしく淡白な感じを与えた。これはだしの強い燻煙臭が味を濃厚に感じさせるためであるという印象を受けた。

終りに臨み，御指導を賜わつた橋本芳郎助教授ならびに味覚試験について御助言を賜わつた慶応大学助教授浦昭二氏に深甚なる謝意を表する。

文　　献

1) 小玉新太郎: 東化, **34**, 751 (1913).
2) 鴻巣章二・橋本芳郎: 本誌, **25**, 307 (1959).
3) 藤田孝夫・橋本芳郎: 本誌, **25**, 312 (1959).
4) MARMUR, J., SCHLENK, F. and OVERLAND, R. N.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **34**, 209 (1951).
5) 須山三千三・鴻巣章二: 本誌, **23**, 555 (1958).
6) FISKE, C. H. and SUBBAROW, Y.: *J. Biol. Chem.*, **81**, 629 (1929).
7) MEJBAUM, W.: *Z. physiol. Chem.*, **258**, 117 (1939).
8) 小川鉄雄: "味の素", 味の素株式会社, 東京 (1956), p. 81.
9) KRUM, J. K.: *Food Engineering*, **37**, 74 (1955).
10) 清水　亘・東　興光・石川　勉: 京大食研, **10**, 78 (1952).
11) 清水　亘・黒川慶昭・池田静徳: 京大食研, **12**, 40 (1953).
12) 大石圭一: 日本農芸化学会大会講演 (1958).

船上でクロルテトラサイクリン処理したキワダマグロの鮮度，肉中のCTC含量ならびに煮沸後のCTC残存量*

米 康 夫・富 山 哲 夫

(1959年8月12日受理)

IMPROVEMENT OF QUALITY OF YELLOWFIN BY CHLORTETRACYCLINE (CTC) TREATMENT ABOARD SHIP AND CTC RESIDUE OF TISSUES BEFORE AND AFTER BOILING.

Yasuo YONE and Tetsuo TOMIYAMA**

The yellowfin, *Neothunnus albacora*, which were caught on Indian Ocean in 1956 by a longliner, Bôchômaru, were subjected to 45- to 60-day storage in CTC-ice (about 3 to 5 ppm.) aboard the boat after being dipped in or smeared with CTC-containing sea water. The freshness of fish in each group was estimated after landing by organoleptic grading and volatile bases nitrogen content of the flesh. The skin and flesh of sample fish were assayed microbiologically for CTC residue, and the flesh was also assayed for residual CTC after boiling. The results can be summarized as follows:

1. The freshness of fish after landing was the best in a group which had been iced after being either dipped in CTC (10 ppm.)-sea water for 1 to 4 hours or smeared with CTC (10 and 100 ppm.)-sea water. The second quality was found in a CTC-iced group without any previous treatment (Table 1).

2. When the fish one from each experimental group, was stored at 0 to 15°C after landing, the fish which was CTC-smeared and CTC-iced showed storage life of about 138% and CTC-iced fish without smearing showed that of 125% as compared with that of control fish.

3. The price of the fish which were stored in CTC-ice with and without previous chilling after being killed on the deck was exceedingly high as compared to the price of the fish which were dead when hauled and that of the fish which were left standing for one hour on the deck after being killed (Table 3).

4. The skin of fish which were smeared with CTC (100 ppm.)-sea water and stored in CTC-ice for 60 days possessed 0.34 mcg. CTC per g. The flesh, 1 cm thick beneath the skin of the same fish, contained 0.28 to 0.59 mcg. CTC per g.

5. The residual CTC in belly fillets after 3-minute boiling was found 20 to 40% of raw tissue. Negative result was obtained (lower than 0.04 mcg. per g.) after 5-minute boiling (Table 4).

緒 言

昭和32年の統計によれば延縄漁法による鮪の漁獲高は年間277,485トン[1]にもおよび，わが国総漁獲高の4%を占めている主要漁業の一つである。近年漁場の遠隔化に伴い漁獲より陸揚げまでに約8週間の長期保蔵を必要とするようになつた。したがつてその鮮度保持に対する Chlortetracycline (CTC と略記) 処理の効果，CTC の魚肉内滲透ならびに熱によるその破壊等について研究することは，漁業経済および国民栄養の上からきわめて重要である。それにもかかわらず従来この種の大型魚について CTC による鮮度保持試

---

* 本研究の大要は 1957 年 4 月の日本水産学会年会（東京）で発表した。

** 九州大学水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan.).

験を行なつた例は全くない。他方，わが国独特の延縄漁法で獲れたマグロの漁獲時の肉質，鮮度等は各個体それぞれ非常に異なると推察されるので，鈎にかかつてから冷却されるまでに要した時間および状態が，陸揚時の鮮度におよぼす影響について検討することはきわめて興味あることである。

著者等は 1956 年に3回の試験を行なつた結果，CTC 処理が顕著な鮮度保持効果を示すこと，CTC の鮪肉内滲透量は微量であり，煮沸によつて容易に破壊されること，ならびに試料魚としては漁獲時に生存していたものを用うべきことなどがわかつた。

実 験 方 法

1. 供試魚: 第1回試験では山口県漁業公社所属の第二防長丸が 1956 年2月2日から 7 日までの間に印度洋 (3°23′S, 65°27′E) において，第2回試験では第一防長丸が 1956 年7月18日から22日までの間に印度洋 Seychelle 群島附近 (6°38′S, 51°29′E) において，第3回試験では第一防長丸が 1956 年 11 月 28 日に西印度洋 (01°06′S, 85°54′E) において，それぞれ延縄で漁獲したキワダマグロ (*Neothunnus albacora*) を試料に供した。

2. CTC 氷および CTC 液: 4.5g の Acronize Bi (CTC 17.3, Ca acetate 23.6, Sea Kem type 15 58.5, Tween 80 0.6) を水道水に溶解し，普通の白氷の場合と同じように氷結し，300 封度の氷をつくつた。この氷は 5 ppm の CTC を含有するはずであるが，第3回試験の帰港時における氷中の CTC 濃度は 0.8 ppm であつた。第1回試験で浸漬および塗布に用いた CTC 液は，4トンの海水に 400g の Acronize FD (CTC 10, citric acid 10, NaCl 78.2, Tween 80 1.0) を溶解した CTC 10 ppm の液で，第2回試験に用いた塗布液は同じようにしてづくつた CTC 100 ppm の液である。

3. 処理方法: 漁獲後直ちに鰓および内臓を除去した魚体をつぎに示す三つの方法で処理した。すなわち 4～5°C の CTC 液に 1～4 時間浸漬した後，全魚体をパーチメント紙および CTC 液に浸漬した布で巻き，魚艙に入れて CTC 氷で氷蔵した浸漬・氷蔵法，CTC 液を刷毛で全魚体に塗布した後，パーチメント紙および CTC 液に浸漬した布を巻き，CTC 氷で氷蔵した塗布・氷蔵法および全魚体をパーチメント紙および普通の布で巻いた後，CTC 氷で氷蔵した氷蔵法である。なお従来通り全魚体をパーチメント紙および布で巻いた後，白氷で氷蔵したものを対照とした。

4. 氷蔵期間および場所: いずれの試験でも操業初期にとれたキワダマグロを CTC 処理し，第1回試験では 3 月 23 日に神奈川県三浦市に陸揚げするまでの 45～50 日間，第2回試験は 9 月 16 日までの 56～60 日間，第3回試験は 12 月 23 日までの 26 日間魚艙内で氷蔵した。魚艙内部は Fig. 1 の a および b に示すように厚板で6室に仕切つてある。したがつて下段は上段よりも，また同じ段でも下部は上部よりも汚染されるし，下部の魚は上部の魚，魚箱および氷等で圧されるので鮮度が低下しやすい。因つて各試験区と対照区を同魚艙の同段同位部に氷蔵することが望ましいが，第3回試験以外は作業の点から計画通りに同段同位部に試料を貯蔵することができなかつた。第1回試験では Fig. 1 の a に示すように浸漬・氷蔵区を左舷の上段下位部 (D)，下段上位部 (E) および両舷の下段下位部 (F) に，塗布・氷蔵区を右舷の上段下位部 (D′) および下段上位部 (E′) に，氷蔵区を両舷の上段中位部より上 (B および C) に，白氷の対照区を中央上段の最上位部 (A) にバラ積みのまま氷蔵した。第2回試験では Fig. 1 の b に示すように氷蔵区を右舷の下段中位部 (H) に，塗布・氷蔵区を左舷の下段中位部 (I) に，対照区を中央下段の上位部 (G) にバラ積みのまま氷蔵した。

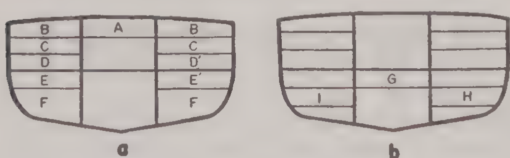


Fig. 1. Position of sample fish stored in hold. Position A: held in plain ice, B: in CTC-ice, C: in CTC-ice, D and E: in CTC-ice after being smeared with 10 ppm CTC, D′ and E′: in CTC ice after dip in 10 ppm CTC, F: in CTC-ice after dip in 10 ppm CTC, G: in plain ice, H: in CTC-ice, I: in CTC-ice after being smeared with 100 ppm CTC.

5. 鮮度判定および CTC 量測定: 陸揚げ後，直ちに各区より約 30 尾づつのマグロを任意にとりだし，尾部肉を品質鑑定および揮発性塩基窒素 (VBN) の測定に供した。Table 1 に示すように鮪肉の VBN は魚体部位によつて非常に異なり，尾部肉の VBN は常に背肉のそれより多い。その理由は恐らく試料とした背肉は普通肉であつたが，尾部肉は腐敗し易い血合肉が相当量を占めていたこと，また漁獲後魚艙へ搬入する時，尾部に wire rope をつけてつるすので，尾部が傷んだためであろう。したがつて尾部肉は鮮度測定の試料としては不適当であつたけれども，本研究では適当な肉を採取することができなかつたので，尾部肉を試料とすることにした。

Table 1. Volatile bases nitrogen content in various parts of yellowfin muscle.

Position of sample flesh \ Date of estimation \ No. of sample	1	2	3	4	5
	X/25	XI/12	XI/12	XI/12	X/25
	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
Back front	24	31	46	39	
Back central	18	43	40	44	48
Tail	38	42	54	50	71
Belly	35	46	45	41	73

現在鮪の鮮度を判定するに適当な化学的方法がなく，VBN を鮪の鮮度判定に用いることは問題である。しかし deaminase 作用力が低下したと考えられる長期冷蔵後における肉の VBN 値は，細菌による鮮度低下と平行するのではないかと考え，著者等は肉の VBN を鮮度判定の一資料とした。VBN の測定は CONWAY の微量拡散法[2] によつた。すなわち肉 16g に水 100cc を加え，ミキサーで細切した後，7% 三塩化醋酸 50cc を加えて除蛋白した沪液を定量に供した。

第 2 回試験の塗布氷蔵区より 2 尾を選びだし，魚体各部の皮下 1cm の肉および腹部皮中の CTC 量ならびに煮沸後の CTC 残存量をつぎに記した GRADY 等[3] の pad-plate 法を著者等が変改した方法[4] により測定した。変改法はバット (35×27cm) に流し固化した寒天上にガラス板をおき，その上に予め用意した *B. cereus* No. 5 の胞子懸濁液を加えた培地（ペプトン 6g，酵母エキス 3g，肉エキス 6g，KH_2PO_4 3g，グルコース 1g，寒天 1g，H_2O 1*l*，pH 5.8 に調整）の 130cc を流し固化する。ついで魚肉 20g に 100cc の塩酸アセトン液（アセトン 65，4_n HCl 5，H_2O 30) を加えて CTC を抽出し，これを NaOH で pH 4.2 に調整する。一方塩酸アセトン液 (pH 4.2) に一定量の CTC を加えて標準液を準備する。n-KH_2PO_4 に浸漬乾燥した円形沪紙 (Carl Schleicher and Schuell 740 E，直径 1/4 inch) をこれらの抽出液ならびに標準液に漬ける。余分の液を除いた後，用意した寒天培地上におき，冷蔵庫 (5°C) 内に 1 時間放置した後 27°C の恒温器で 15 時間培養する。円形沪紙の周りにできた阻止帯の直径を測定し，標準液の阻止帯直径からえた標準曲線より CTC 濃度を求める。この方法によれば 0.0065 mcg/cc (0.04 mcg/g tissue) まで測定することができる。

なお第 1 回試験の場合は三崎において 3 月 24 日より 3 月 30 日までの間に，第 2 回試験の場合は試料を急速凍結して東京に輸送し，9 月 18 日から 21 日までの間に，第 3 回試験の場合は三崎において 12 月 23 日に測定した。また第 2 回試験では各区より 1 尾づつ選び，冷蔵庫 (0〜15°C) に放置して保蔵試験を行なつた。

結果および考察

1. 陸揚げ時の鮮度: 第 1 回試験では各試験区の貯蔵場所が異なつたので，まず貯蔵場所の近い区を比較し，ついでその比較結果を結びつけて CTC 氷，浸漬法および塗布法の効果を判定した。Fig. 1 の a に示す魚艙の上段最上部 (A および B) に置いた CTC 氷蔵区（氷蔵区と略記）と白氷で氷蔵した対照区の陸揚げ時における VBN を比較すると，Table 2 に示すように氷蔵区の VBN は，対照区の 20.9 mg% に対し 18.8 mg% であつた。また両試験区の VBN の差に対する t 検定の結果は 5% の危険率で有意の差が認められた。しかし Table 2 に示した業者の品質鑑定値では氷蔵区の値と対照区のそれとの間には差が認

Table 2. Volatile bases nitrogen content and quality after landing of flesh of CTC–treated yellowfin.

Date of landing	No. of group	Treatment: Ice for storage	Treatment: Dip or smear	Position of sample in hold†	Date of capture	No. of sample: total	No. of sample: alive	Volatile bases N: mg%	Volatile bases N: "t"§ test	Average price Yen/kg.: All the samples	Average price Yen/kg.: Alive only
1 st Exp. (landed on III/23 '56)	1	plain ice		A	II/7	28	0	20.9±0.8§§		87	
	2	CTC ice		B	II/7	30	0	18.8±0.5	2.26*	86	
	3	CTC ice		C	II/6	29	0	22.6±0.6		88	
	4	CTC ice	smeared with 10 ppm CTC.	D, D′	II/2,3,6,7	28	0	19.8±0.7	3.04**	94	
	5	CTC ice	1–4 hr.–dip in 10 ppm CTC.	E, E′	II/3,6	28	0	19.7±0.4	3.98**	92	
	6	CTC ice	1–4 hr.–dip in 10 ppm CTC.	F	II/2,3	28	0	19.9±0.8	2.70**	96	
2 nd Exp. (landed on IX/16 '56)		plain ice		G	XII/22	30	29	38.4±1.7		83	84
		CTC ice		H	XII/18	24	18	39.1±1.5		84	86
		CTC ice	smeared with 100 ppm CTC.	I	XII/19	26	13	34.4±1.3		79	87

† See Fig. 1. § $n=40\begin{cases}P=0.05, & t_0=2.021\\ P=0.01, & t_0=2.704\end{cases}$, $n=60\begin{cases}P=0.05, & t_0=2.000\\ P=0.01, & t_0=2.660\end{cases}$

§§ Standard error of the mean

* t test for group 2 vs. group 1. ** t test for group 4, 5, 6 vs. group 3.

められなかつた。

つぎに魚艙の上段中位部 (C) の氷蔵区の VBN と上段下位部 (D および D′) および下段上位部 (E および E′) の塗布・氷蔵区および浸漬・氷蔵区，ならびに下段下位部 (F) の浸漬・氷蔵区の VBN とを比較すると，氷蔵区の 22.6 mg% に対し塗布・氷蔵区は 19.8 mg%，浸漬・氷蔵区は 19.7 mg% あるいは 19.9 mg% であつた。また塗布・氷蔵区および浸漬・氷蔵区の VBN と氷蔵区のそれとの差に対する t 検定の結果では 1% の危険率で有意の差が認められた。なお塗布・氷蔵区および浸漬・氷蔵区の業者による品質鑑定値は氷蔵区のそれより大きかつた。

以上大別して2箇所の異なる位置における比較を結びつけてそれらの効果を綜合比較してみると，CTC 氷は明らかに鮮度保持に有効であるが，魚体を CTC 液に浸漬するかあるいは CTC 液を魚体に塗布することによつてさらにその効果は増大するといえる。特に最も汚染されやすい魚艙の下段下位部に氷蔵した浸漬・氷蔵区の鮮度が，最も汚染され難い中央上段の最上位部に白氷氷蔵した対照区のそれよりきわめて良好であつたことは，CTC 処理の効果が非常に優れたことを示している。

第2回試験の陸揚げ時の鮮度は Table 2 に示すように，塗布・氷蔵区が良く，VBN は対照区の 38.4 mg% に対し，塗布・氷蔵区は 34.4 mg% であつた。しかし氷蔵区の VBN は 39.1 mg% で対照区と全く差が認められなかつた。また業者による品質鑑定値は Table 2 に示すように試験区の値はいずれも対照区のそれと比べて全く差がなかつた。したがつて第1回試験で CTC 処理が顕著な鮮度保持効果を示したのに対し，第2回試験ではほとんど効果を示さなかつた原因を探究するために漁獲時の記録を詳細に調べたところ，第1回試験では漁獲時に死亡していたマグロのみを試料に用いていたが，第2回試験では漁獲時に死亡していたものと，生存していたものとを各区それぞれ異なる割合で試料としていることがわかつた。すなわち対照区は生存鮪 29 尾に対し死亡鮪は1尾であつたが，塗布・氷蔵区は生存鮪 13 尾に対し死亡鮪は 15 尾であつた。一方水温が 25°C 以上もある印度洋で死後 5～20 時間も放置されたもの，および 30°C 前後の気温の洋上で甲板上に1時間も放置されたものの鮮度は，撲殺後直ちに冷却されたものの鮮度より非常に劣るであろう。したがつて試料の大半が生存鮪であつた対照区の鮮度と，死亡鮪が多い試験区の鮮度とに差がなくなることは当然であろう。この点を解明するために各区の品質鑑定値を生存鮪と死亡鮪とに分けて解析してみた。Table 2 に示すように，対照区の生存鮪 29 尾の平均品質鑑定値は 84 であつたのに対し，塗

布・氷蔵区の生存鮪13尾の平均値は87，氷蔵区の生存鮪 18 尾の値は 86 で，いずれの試験区も生存鮪の肉質は対照区のそれより多少優れていた。死亡鮪については対照区の死亡鮪が1尾であるから試験区と比較することは無理である。以上の解析によつて死後冷却までに要した時間および放置条件によつて肉質が非常に異なるであろうことが予想されたので，第3回目の試験ではこの点について検討した。すなわち漁獲時生存していたマグロを撲殺後，直ちに予備冷却用食塩水（5～4°C）に1時間浸漬した後，CTC 氷で氷蔵したものおよび撲殺後直ちに CTC 氷で氷蔵したものの陸揚時の肉質を撲殺後甲板上に1時間放置した後 CTC 氷で氷蔵したもの，および漁獲時に死亡していたマグロを予備冷却用食塩水に1時間浸漬した後 CTC 氷で氷蔵したもののそれと比較すると，Table 3 に示すように前者の肉質は後者の約1.5～2.0倍であつた。したがつてこのような鮮度試験を行なう場合には，条件を一定にするために生魚のみを試料とせねばならない。

Table 3. Effect of the condition after capture on quality of fish.

Status of fish when lifted	Treatment prior to storage in CTC ice	No. of fish	Average price Yen/Kg
alive	chilled in brine (4～5°C) for 1 hr. immediately after capture, and CTC-iced.	10	111
〃	held in CTC-ice immediately after capture.	10	108
〃	left on deck (30°C) for 1 hr. after capture, and CTC-iced.	10	67
dead	chilled in brine (4～5°C) for 1 hr. immediately after being lifted, and CTC-iced.	10	54

2. 0～15°C に放置した場合の鮮度の変化： 各区より1尾づつの小型鮪（体長 95～111 cm）を選び魚箱に入れて，試験魚には CTC 氷を，対照区には白氷をかけて 0～15°C の冷蔵庫に放置し，5～7 日毎に背部肉の VBN を測定した。なお試料は尾部から頭部へ向つて，左右の背肉より交互に 7～15 cm の間隔で採取した。保蔵試験の結果は Fig. 2 に示す通りで，塗布・氷蔵区の陸揚げ時の VBN は最も多く 26.3 mg% を示していたにかかわらず，その後の増加は緩慢で，40 mg% 以下に維持された日数は，対照の 17 日（漁獲後 79 日）に対し 45 日（漁獲後 110 日）であつた。なお氷蔵区の維持日数は 33 日（漁獲後 99 日）であつた。したがつて各試験区の陸揚げ後の鮮度保持効果は塗布・氷蔵区が 2.7 倍，氷蔵区が 1.9 倍となる。

3. CTC の魚体内滲透と加熱による破壊： 塗布・氷蔵した鮪の背部，尾部および腹部の皮下厚さ 1 cm の肉と腹部の皮の CTC 量を測定したところ，腹皮に 0.34 mcg/g，腹肉に 0.28～0.59 mcg/g の CTC が認められたが，他の部分には 0.04 mcg/g 以下であつた。ついで腹部肉片 37.5～40.0 g を 200 cc の煮沸水に入れて煮沸し，3分後および5分後に肉および煮沸水中の CTC 残量を測定したところ，Table 4 に示すように CTC 残存量は3分後の肉中には煮沸前の CTC 量の 20～40%，5分後の肉には 10% 以下であつた。また煮沸水中には

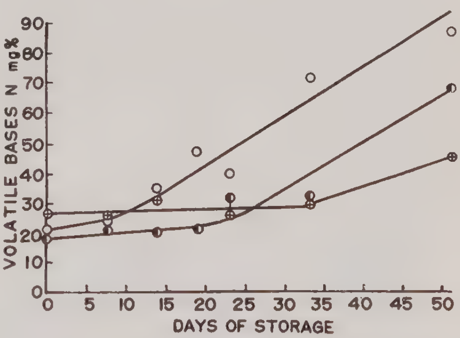


Fig. 2. Change in volatile bases nitrogen content during storage at 0～15°C after landing of yellowfin treated aboard with CTC.
○: control fish, ◐: CTC-iced fish, ⊕: CTC-smeared and CTC-iced fish.

Table 4. CTC-residue in belly fillets after boiling.

Time of boiling	CTC mcg./g. #1	CTC mcg./g. #2	CTC mcg./g. #3
0	0.28	0.45	0.59
3-minute	0.10	0.21	
5-minute	neg.*	neg.	neg.

* neg. means smaller than 0.04 mcg./g. sample.

常に CTC は認められなかつた。

結　　論

延繩でとれたキワダマグロを漁獲直後に CTC 処理し，約 45～60 日船内貯蔵後の鮮度および陸揚げ以後の鮮度変化について研究した。また長期間 CTC 氷で氷蔵した場合の CTC の魚体内滲透量，および滲透した CTC の加熱による破壊についても検討した。

1. 陸揚げ時の鮮度は 2 回行なつた試験のいずれの場合にも，10 ppm の CTC を含む冷却海水に 1～4 時間浸漬した後，あるいは 10 ppm または 100 ppm の CTC 海水液を魚体に塗布した後，CTC 氷で氷蔵したものが最も良く，ついで CTC 氷のみで氷蔵したものの鮮度が良かつた。

2. 各区より 1 尾づつ選び 0～15°C の冷蔵室に放置した場合，VBN が 40 mg% に達するのに白氷区は 17 日（漁獲後 79 日），塗布・CTC 氷蔵区は 45 日（漁獲後 110 日），CTC 氷蔵区は 33 日（漁獲後 99 日）を要した。

3. 漁獲時に生存していた鮪を撲殺後直ちに冷却し，CTC 氷で保蔵したものの肉質は，市場価格からみるときわめて良く，撲殺後 1 時間甲板上に放置したもの，および死魚を同様に処理したものの肉質に比べて 1.6～2.0 倍勝れていた。

4. 100 ppm の CTC 液を塗布した後，約 60 日間 CTC 氷で氷蔵したキワダマグロの魚体各部の CTC 量は，腹部の皮に 0.34 mcg/g，皮下厚さ 1 cm の肉には 0.28～0.59 mcg/g であつた。

5. 腹肉に滲透した CTC は 3 分間の煮沸で 60～80% が，5 分間の煮沸で 90% 以上が破壊された。

終りに船上で試料をつくられた山口県漁業公社員天野卓郎氏，品質鑑定をされた相原寛治氏，試料の分析に協力された黒木俊一，野村稔，三ヶ尻和男の各氏に感謝するとともに，本研究の遂行に多大の御支援を戴いた三浦市役所水産課，三崎漁業協同組合連合会製氷冷凍工場，東都水産冷凍工場ならびに CTC の試料を提供された日本レダリー KK に謝意を表する。

文　　献

1) 農林省統計調査部：ポケット農林水産統計 (1959), p. 244.
2) CONWAY, E. J.: *Micro-diffusion Analysis and Volumetric Error, rev. ed.*, 1947, D. Van Nostrand Co. Inc., New York, N. Y.
3) GRADY, J. E., and W. L. WILLIAMS: *Antibiotics and Chemotherapy*, **3**, 158 (1953).
4) 米　康夫・三ヶ尻和男・富山哲夫：1957 年 4 月　日本水産学会年会（東京都）で発表.

クロルテトラサイクリンの化学的定量法—II.
新螢光定量法の簡易化および他の定量法との比較*

富山哲夫・米　康夫・北原慶子

(1959 年 8 月 17 日受理)

CHEMICAL METHOD FOR DETERMINATION OF CHLORTETRACYCLINE—II. A PRACTICAL FIELD ASSAY METHOD

Tetsuo TOMIYAMA, Yasuo YONE, and Keiko KITAHARA**

The present paper deals with development of a practical fluorometric method for the determination of chlortetracycline (CTC) and with the reliability of the fluorometric method for CTC assay in ice as compared with several chemical and microbiologic assay methods.

Two field fluorometric procedures have been developed in which the visual comparison of the fluorescence of a sample with that of a standard is made by using flat-bottom test tubes, on one hand, and a portable nephelo-colorimeter, on the other, viz., (1) by the use of test tubes: place 10–cc aliquots of supernatent of a thawed sample ice and the standard CTC solution series in a series of the flat-bottom test tubes of 27 mm. in diameter, and then add to each test tube 1 cc. of the alum reagent; after a 5– to 10–minute standing, estimate the CTC concentration of the sample by comparing from top of the tubes the intensity of fluorescence of the sample with each of the standard series while being side-irradiated with a long wave ultra-violet ray lamp, (2) by the use of the portable nephelo-colorimeter: add 1–cc. aliquot of the alum reagent to 10–cc. aliquot of supernatent of a thawed sample ice and a standard CTC solution (4 or 2 mcg./cc. depending on CTC content of the sample); after allowing it to stand for 10 minutes, place the sample in one of the comparison tube, a, and the standard in the other tube, b; set the bottom of an inner tube for the tube, b, at a depth of 30 mm. and by adjusting the other inner tube find the reading, h, on the tube, a, which will give fluorescence intensity comparable to that of the standard, both tubes being equally irradiated with the long wave ultra-violet lamp; the content of CTC (mcg./cc.) can be calculated by a formula, $S \times 30/h$, where, S, the CTC concentration of the standard solution employed.

The feasibility of the fluorometric method for CTC–estimate in ice has been clearly shown by data that, while the fluorometric method gave a comparable value to that obtained by the microbiologic method, higher values were always resulted when assayed by a modified acid colorimetric[8], the UPHAM et al's[7] and the SAKAGUCHI et al's method[9], but lower values by the Japan FDA method[6].

緒　　言

現在，以西底引漁獲物の鮮度保持にクロルテトラサイクリン (以下 CTC と略記) を含む氷が広く使用されている。氷中の CTC を製氷後，貯氷中あるいは帰港後に野外で定量する必要性が，食品衛生の立場からだけではなく水産業者の立場からも要望されている。本研究の目的は著者等が第 1 報[1] に報告した CTC のアルミニウムキレートが発する螢光により定量する方法が前記の要望に答え得るか否かを決定するにある。

まず CTC 氷中の CTC の螢光による定量値が微生物検定法[2,3] による値と比較的よく一致することを確

* 本研究の大要は 1958 年 4 月　日本水産学会年会 (東京) で発表した。

** 九州大学水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan.).

かめたので，さらにこの方法の簡易化を試みた。その結果，試験管による比色法および携帯用比色比濁計を用いる比色法を案出した。

他方，CTC の化学的定量法としては数種の方法が発表されている。それ故にこれらの方法，すなわち塩化第二鉄による比色法[4]，iso-CTC の螢光による定量法[5,6]，紫外部吸光法[7]，酸比色法[8] および CTC のトリウム・キレート化合物の吸光度による方法[9]を用いて CTC 氷中の CTC を定量した値と本法値との比較検討を行なつた。その結果をみると，新螢光定量法は現在までに提出された化学的定量法の内では最も信頼しうる方法であるといえる。

定　量　法

1. 試薬および試料の調製

a. 試薬 1% カリ明礬液： 1 g のカリ明礬 $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ を pH 4.6 の M/2 醋酸緩衝液 100 cc にとかす。詳細は第 1 報[1] を参照されたい。

b. CTC の標準原液： 1 mg/2 cc が適当である。詳細は第 1 報[1] を参照されたい。

c. 試料の調製： 供試氷 300 g をビーカーあるいはポリエチレンの袋に入れ，流水中で融解し，融解後直ちに融解水 50 cc に 2 cc の M/50 クエン酸緩衝液 (pH 5.2) を加えておき，しばらく静置し上澄液を定量に供する。

2. 定 量 装 置

簡易定量には紫外灯を，精密定量には Beckman spectrophotometer を必要とする。

a. 紫外灯： 本研究には Ultra-violet products Inc. (San Gabriel, Calif., U. S. A.) 製の商品名 Blak-ray lamp を使用したが，最近国産品が発売されている。この種の lamp には 254 mμ 附近の輝線により励起されて，330～400 mμ の強い螢光を発する円筒フィルターがつけてある。したがつてこの波長範囲の光によつて生ずる螢光の肉眼的比較に用いることができる。また小型で携帯に便利であるから野外での測定に適している。

b. 携帯用比色比濁計： この装置はすでに富山[10] が報告したものであつて，本定量の場合は比濁法の場合[11]と同様に，内管の側面からの光を遮断するために，内管の内部に黒色ラシャ紙でつくつた円筒を挿入して用いた。

c. 分光光度計： 本研究では日立製作所製分光光度計 EPU-2 型を使用し，10 mm の螢光測定用キュベットを用いた。

3. 定 量 操 作

a. 試験管による比色法： まず 1 cc の CTC 標準原液を蒸溜水で稀釈して 100 cc に定容し，5 mcg/cc の液をつくる。これを平底の同径同質（約 27 mm）の硝子管に 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 および 10 cc とり，いずれも蒸溜水で 10 cc とする。また 10 cc の試水および蒸溜水をそれぞれ同様な硝子管にとり，それらに 1 cc の 1% カリ明礬試薬を加える。よく攪拌し，5 分経過以後に再び攪拌し，白紙上におき，暗室あるいは暗箱で紫外線を側面より照射し，上方よりその螢光の強さをみて，同程度の螢光を示す標準液を求め，試水の CTC 濃度を定める。

b. 携帯用比色比濁計を用いる比色法： CTC 標準原液を蒸溜水で稀釈し，4 および 2 mcg/cc の CTC 濃度とする。標準液 10 cc および試水 10 cc にそれぞれ 1% カリ明礬試薬 1 cc を混和し，10 分後にそれぞれ比色計の外管に入れる。つぎに左側の標準液の方の内管を目盛 30 にあわせる。側面から紫外線を均一に照射しつつ右側の内管を上下して，左側の標準液と同一の明るさを示すときの液層 h を求め，次式によつて濃度を算出する。

$$\mathrm{CTC\ (mcg/cc)} = S \times \frac{30}{h}$$

ただし，　S： 使用した標準液の CTC 濃度 (mcg/cc)

c. 日立製分光光度計を用いる定量法： 定量操作は第 1 報[1] に記載した通りである。

実験結果および考察

1. 携帯用比色比濁計を用いる比色法の精密度

第1報[1]にしるした基礎実験の結果に基いて案出した試験管による方法は，試水の螢光と同程度の螢光を示す標準液を求めて，試水の CTC 濃度を定めるので，特別に検討すべき測定条件はない。

しかし携帯用比色比濁計を用いる方法では，標準液の CTC 濃度，液高と定量値の精密度との関係を明らかにしておく必要がある。現在許可されている氷の CTC 濃度は 5ppm 以下である。携帯用比色比濁計を用いる比色法で定量する場合，標準液として 4 および 2mcg/cc の CTC 濃度を採用すれば，0～6ppm の範囲の CTC を測定できるだろう。したがつて 4 および 2mcg/cc の標準液の液高をそれぞれ 50, 30 および 20 におき，蒸溜水に溶解した 5, 4.5, 4, 3.5, 3, 2.5, 2, 1.5, 1, および 0.5mcg/cc の CTC 液を測定して，各標準液で測定しうる範囲および定量の精密度について検討した。5回の測定値の平均および平均標準誤差は Table 1 に示す通りである。これらの結果からみると，標準液の液高を 30 にすれば，4mcg/cc の標準液では 5mcg/cc から 3mcg/cc の間を，また 2mcg/cc の標準液では 3mcg/cc から 0.5mcg/cc までを相当精度高く測定できることがわかる。

Table 1. Accuracy of field method for CTC determination.

Sample mcg/cc \ Standard / Reading	4 mcg/cc, set at reading 50	4 mcg/cc, 30	4 mcg/cc, 20	2 mcg/cc, set at reading 50	2 mcg/cc, 30	2 mcg/cc, 20
5.0	4.7 ± 0.07*	5.3 ± 0.14	5.1 ± 0.20			
4.5	4.3 ± 0.05	4.7 ± 0.06	4.4 ± 0.09			
4.0				4.2 ± 0.08	4.0 ± 0.13	
3.5	3.8 ± 0.06	3.7 ± 0.09	3.9 ± 0.05	3.5 ± 0.06	3.1 ± 0.11	
3.0	3.5 ± 0.03	3.1 ± 0.04	3.1 ± 0.04	3.4 ± 0.10	3.0 ± 0.10	
2.5		2.8 ± 0.06		2.5 ± 0.02	2.3 ± 0.08	
2.0	2.3 ± 0.02	2.3 ± 0.06	2.2 ± 0.04			
1.5				1.5 ± 0.05	1.6 ± 0.03	
1.0					1.1 ± 0.03	1.1 ± 0.01
0.5					0.7 ± 0.02	0.7 ± 0.01

All the readings given in the table are average of five readings.
* Standard error of the mean.

2. 本法および他の定量法による氷中の CTC 定量値の比較

現在使用されている CTC 氷には CTC の外にカーボキシメチル繊維素，酸性亜硫酸ソーダおよび食塩が含まれているので蒸溜水や水道水にとかした CTC の定量がうまくできる方法であつても，この種の氷の場合によい方法とは断定できない。因つて新螢光定量法の外に数種の方法で同一の供試氷中の CTC を定量して比較を試みた。なお供試氷には製氷後貯蔵期間の短いもの，船上における氷蔵に使用した後陸揚げ時に採取したものなどが含まれている。

まず分光光度計を用いる新螢光定量法および cylinder plate assay 法[3]で同一供試氷中の CTC を定量した結果を Fig. 1 に示した。新螢光定量法による値の大半は微生物検定値に近似しており，本法は氷中の CTC 定量に適した定量法であるといえる。Table 2 に示した pad-plate 法[2]，分光光度計を用いた

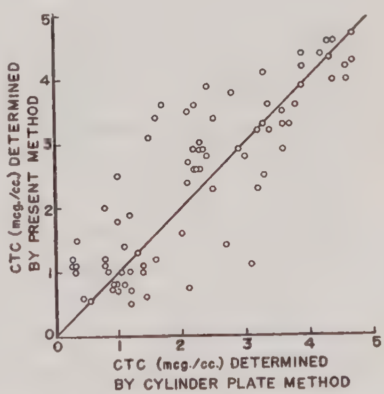


Fig. 1. Comparison between values for CTC in ice determined by the present method and cylinder plate microbiologic method. The ice originally contains CTC (5 ppm), carboxymethylcellulose (15.2 ppm), $NaHSO_3$ (1.9 ppm), and NaCl (77.9 ppm).

Table 2. Comparison of analytical data for CTC in ice assayed by various methods. The ice possesses the same composition as given in Fig. 1.

Pad plate micro-biologic method mcg/cc	The present method		Acid colorimetric method	
	mcg/cc	% dev. from bioassay	mcg/cc	% dev. from bioassay
3.8	3.3	−13	4.1	+ 8
2.8	3.8	+36	4.6	+ 64
3.0	2.8	− 7	3.6	+ 20
3.9	4.2	+ 8	5.1	+ 31
3.8	3.6	− 5	4.1	+ 8
3.2	2.3	−28	3.3	+ 3
4.1	3.9	− 5	5.1	+ 24
2.5	1.7	−32	3.5	+ 40
2.1	1.9	−10	5.7	+171
1.6	1.5	− 6	3.4	+113
2.1	1.5	−29	3.5	+ 67
1.5	1.4	− 7	3.1	+107
2.3	1.5	−35	3.0	+ 30

Table 3. A comparison between values for CTC in ice determined by the present method, the SAKAGUCHI et al's method, the UPHAM et al's method and the pad plate microbiologic method. The ice possesses the same composition as given in Fig. 1.

Micro-biologic method	The present method	SAKAGUCHI et al's method		UPHAM et al's method
		before filtration	filtration after	
mcg/cc	mcg/cc	mcg/cc	mcg/cc	mcg/cc
2.6	1.4	4.4	3.3	
2.0	1.6	4.2	3.7	
1.4	1.1	5.0	3.2	
1.6	1.2	2.7	2.0	
3.3	2.5	5.1		
2.9				5.4
3.4				5.8
3.5				5.8
2.6				4.3
3.1				5.7

本法および酸比色法による値を比較してみると，この場合，本法による値は微生物検定値に近似し，最大偏差 36%，平均偏差 17%であつたが，酸比色法値は微生物検定法値よりも常に高く，最大偏差 171%，平均偏差 53%であつた。なお酸比色法ではこの成分組成をもつ氷の場合は過大な値を示したが，他の成分組成の CTC 氷では微生物検定値と近似した値を示した。このことについての詳細は次報で報告する。つぎに融解水を 0.05 N HCl 液として 370 mμ の吸光度を測定し，CTC 量に換算する UPHAM 氏等の研究による定量値[7] を微生物検定値[2] と比較した結果を Table 3 に示した。UPHAM 氏等の方法による値は微生物検定値より極めて高い値を示したが，おそらくは微細な浮遊物質が吸光度に影響したためであろう。坂口氏等のトリウム法による値を本法値と比較すると，前者は微生物検定値よりも常にはるかに高い値を示した (Table 4)。なお坂口氏等の方法ではトリウム試薬の添加後に沪過してから定量すると，沪過前の値に比べてかなり低くなるが，微生物検定値よりもまだかなり高い値を示した。坂口氏等の方法ではキレートの吸光度を測定しているので，微細な浮遊物の存在は見かけの値を高くするのが当然であり，沪過により値が低下したのもこのような理由であろう。他方，分光光度計を用いた本法値と試験管による簡易定量値とを厚生省が指示した定量法の値と比較した。Table 5 から，わかるように分光光度計を用いた値および簡易定量値は微生物検定値[8] に近似していたが，厚生省の公定法ではしばしばきわめて低い値を示した。これは市水に溶解した CTC は厚生省の方法では完全に iso-CTC に変化しないことを意味している。また公定法による iso-CTC の螢光は紫外線照射下できわめて不安定であるから，定量が困難な欠点をもつている。

Table 4. A comparison between values for CTC in ice determined by the present method, Japan FDA method and cylinder plate microbiologic method. The ice possesses the same composition as given in Fig. 1.

Micro-biologic method	The present fluorometric method			Japan FDA method
	Spectro-photometric method	Field method Average of 4 pannels	Mean dev. of 4 pannels	
4.4	4.6	3.9	0.2	2.7
4.6	4.2	4.2	0.3	4.4
4.0	4.0	5.1	0.1	4.0
4.6	4.0	3.8	0.2	4.1
3.3	4.1	3.4	0.2	1.8
1.0	2.5	2.6	0.2	1.8
0.8	2.0	1.5	0.2	1.3
1.0	1.8	1.6	0.1	0.5
1.4	1.0	1.3	0.1	1.1
4.7	4.3	4.0	0.2	2.3
4.7	4.7	4.4	0.3	2.3
4.3	4.6	4.7	0.4	2.4
3.9	4.4	4.3	0.3	2.3
2.2	3.6	2.9	0.1	3.5
2.5	3.4	3.5	0.1	2.5

以上の結果からここに氷中の CTC の定量に適用した化学的定量法の内では本法が最も信頼できるといえる。

総　　括

新螢光定量法を現場で実施できるように簡易化し，この方法によつて氷中の CTC を定量したところ満足すべき結果がえられた。結果を要約するとつぎの通りである。

1. 携帯用比色比濁計を用いる簡易定量法では，標準液の CTC 濃度は 4 および 2mcg/cc でよい。標準液の液高をそれぞれ 30 とした場合，4mcg/cc の標準液では 5mcg/cc から 3mcg/cc までを，また 2mcg/cc の標準液では 3mcg/cc から 0.5mcg/cc までの CTC を相当精度高く定量できる。

2. 本法，微生物検定法，坂口等のトリウム法，酸比色法，紫外部吸光法および厚生省指示の iso-CTC による螢光法によつて氷中の CTC を定量すると，本法値は微生物検定法値に近似したが，厚生省指示による値は多くの場合低い値を示し，また他の方法はいずれも微生物法値よりも著しく高い値を示した。

本研究は文部省科学研究費によつて遂行した。また実験には森　健児，豊田恭平および岩崎富生の各位の助力を受けた。ここに各方面の厚意と協力とに謝意を表する次第である。

文　　献

1) 富山哲夫・米　康夫・北原慶子： 本誌，**25**，234 (1959).
2) 富山哲夫・津田　厚・米　康夫： 本誌，**23**，660 (1958).
3) 富山哲夫・津田　厚・米　康夫： 本誌，**24**，289 (1958).
富山哲夫・小林邦男・米　康夫： 本誌，**24**，937 (1959).
4) MONASTERO, F., MEANS, J. A., GRENFELL, T. C., and F. H. HEDGER: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **40**, 241 (1951).
5) LEVINE, J., GARLOCK, JR. E. A., and FISCHBACH, H.: *J. Am. Pharm. Assoc.* (*Sci. Ed.*) **38**, 473 (1949). GROVE, D. C., and W. A. RANDALL: *Assay method of antibiotics, A laboratory manual* (*Antibiotics monographs No. 2*) p. 56, Medical Encyclopedia Inc., New York, N. Y. (1955).
6) 厚生省公衆衛生局長： 衛発第 314 号（昭和 33 年 4 月），氷および魚肉のクロルテトラサイクリンの定量試験について.
7) UPHAM, S. D., STIRN, F. E., WEIDENHEIMER, J. F., CALLAHAN, F. M., and L. RITTER: *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute, seventh annual session*, Havana, Cuba, (November 1954).
8) 富山哲夫・米　康夫： 1957 年 10 月 9 日函館における日本水産学会大会で講演した.
9) SAKAGUCHI, T., and K. TAGUCHI: *Pharm. Bull.* **3**, 166 (1955).
10) 富山哲夫・渡辺　実： 農化，**14**，187 (1938).
11) 富山哲夫・細川栄三郎： 本誌，**15**，577 (1950).

魚肉ねり製品の研究—VII*

生魚肉の吸水力におよぼす各種塩類の影響（その1）

岡 村 一 弘

(1959 年 8 月 20 日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO", FISH JELLY, AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—VII. INFLUENCE OF ADDED SALT UPON THE WATER INTAKE OF FISH FLESH (PART I.)

Kazuhiro OKAMURA**

As previously reported[1),2)], when fish fresh is treated with an aqueous solution of sodium chloride, sodium pyrophosphate or sodium tripolyphosphate, its affinity with water as reflected on the factor of water intake of the flesh attains to a minimum at a certain low concentration of the salt solution, at which it appears likely to hold between ionic characteristics of the salt and the factor of water intake of the flesh a relation independent of the kind of salt:

$$N \cdot \mu = 0.1, \qquad \frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_i |Z_i'| = 0.1$$

wherein N stands for the factor for recalculating the molality into the normality, μ for the ionic strength at which the factor of water intake attains to a minimum, Z_i for the valency of the i-the ion and V_i for the molar concentration of the i-th ion.

Since the existence of such a minimum in hydrophilicity can constitute a technical significance for facilitating the preparation of Kamaboko of a superior quality, its validity was examined in the present work by testing the said relation in respect of its applicability to the cases of

i) salts comprising a monovalent cation and a monovalent anion: KCl, LiCl, NH_4Cl, NaF, KI;

ii) salts comprising monovalent cations and a divalent anion: $(NH_4)_2SO_4$, Na_2SO_4;

iii) salts comprising a divalent cation and monovalent anions: $CaCl_2$, $BaCl_2$, $MgCl_2$;

iv) a salt comprising a divalent cation and a divalent anion: $MgSO_4$.

The experimental results sustain that, so for as indentical specimens of fish fresh (see eel) are concerned, said relation holds safely for every one of abovementioned salts.

既報[1),2)]の通り果して蒲鉾の"足"の発生の度合が塩添加のもたらす肉吸水率の上昇の度合に準ずるものであるならば，適当な塩添加によつて魚肉の吸水率を極小に持ち来すことが可能であるというこの度確認された事実は，同じ原料肉でもかかる極小点において水搾りした後に塩添加を行なうことによつてそれだけ"足"の強い製品が得られる筈であるということの示唆となる。原料肉の吸水率極小点はこの意味において蒲鉾製造技術に関して重大な意義を有するものと見做される。よつて著者は今回吸水率極小点の信拠性を不

* 日本水産学会誌 Vol. 24, No. 7～8, No. 10, No. 12 に発表した「魚肉ねり製品に対する燐酸塩類の研究 I～VI」を「魚肉ねり製品の研究」という題の下にまとめることとし，それらの研究をそれぞれ「魚肉ねり製品の研究 I～VI」とする。
本研究は昭和 34 年 4 月 1 日，日本水産学大会において報告した。

** 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Laboratory)

動のものにしようという意図の下にすでに取扱つた塩，すなわち食塩，ピロ燐酸ソーダ以外に選んだ諸種の塩類を適用して吸水極小点の普遍性をしらべたところ，一定原料肉に関する限り肯定的な結果を得たので，以下その次第を報告する。

実験および結果

実験材料： 生鮮魚肉としてハモ肉を使用した。かまぼこ製造所で採肉したハモ肉を購入し，このハモ肉を約 4~5 倍量の水道水で洗い，遠心分離した。2回このように処理したものを水切りして実験材料にあてた。

実験方法： 吸水率の測定はIII[1] 報に記載した方法を用い，mixer で homogenize する時間は3分，遠心分離の条件は 3700~4000 r.p.m で 15 分とし，肉と塩溶液との比率は材料魚肉の吸水力の強弱に応じて適宜これを定めた。

実験結果： Fig. 1 から Fig. 4 に掲げる通りであつて

i) アニオン，カチオンとも1価の塩類，LiCl，NH_4Cl，NaF，KI においては Fig. 1 に示す通り例外なく 0.1 mol 濃度で吸水率に極小値をうる。これは $N\cdot\sum_i V_i Z_i^2 = \frac{1}{5}\cdots\cdots$(I) の式を満足する。

ii) アニオン2価，カチオン1価の塩類，$(NH_4)_2SO_4$，Na_2SO_4 においては Fig. 2 に示す通り M/60 濃度で吸水極小値が見られ，この場合も（1）式を満足する。

iii) アニオン1価，カチオン2価の塩類，$CaCl_2$，$BaCl_2$，$MgCl_2$ では Fig. 3 に示す通りであつて，前二者は M/60 で吸水極小値を与え，$MgCl_2$ の場合は M/60 の濃度で小さい吸水極小値を示し，M/30 で大きい吸水極小値を示す。$MgCl_2$ が二つの極小値を示すことについては考察のところで詳しく述べるが，これら三つの塩類においても（I）式は満足されることが判る。

iv) アニオン，カチオンとも2価の塩．すなわち $MgSO_4$ においては Fig. 4 のように M/80 濃度で吸水極小値がみられ（I）式を満足する。

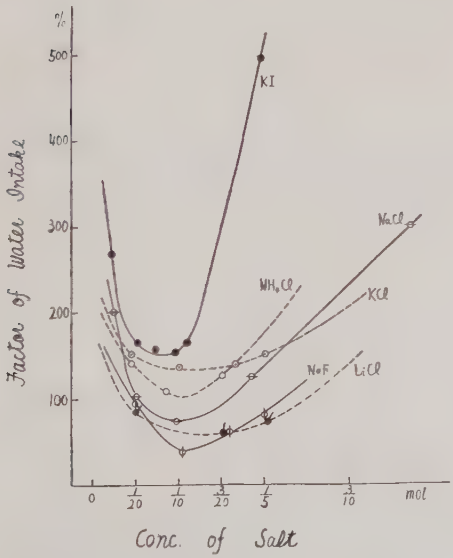


Fig. 1. The factors of water intake of a fish flesh (see-eel) previously washed with water are shown as variable with the concentration of added salt solution.
Salt: Both cation and anion are of mono-valency.

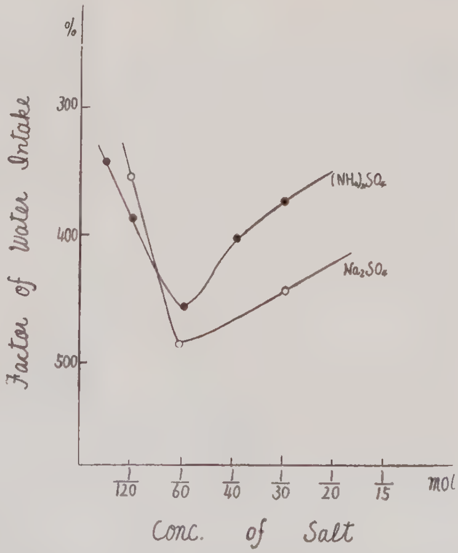


Fig. 2. The same as in Fig. 1 but that the salts consist of mono-valent cation and di-valent anion.

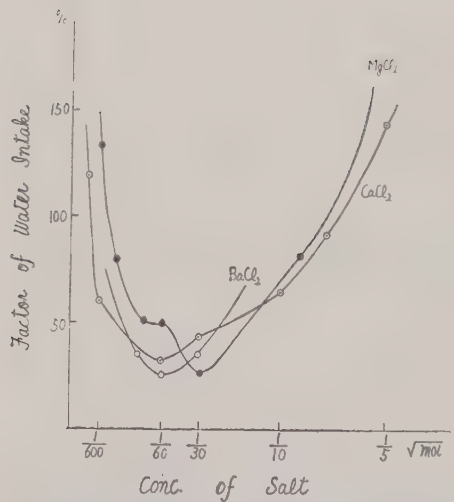


Fig. 3. The same as in Fig. 1 but that the salts consist of di-valent cation and mono-valent anion.

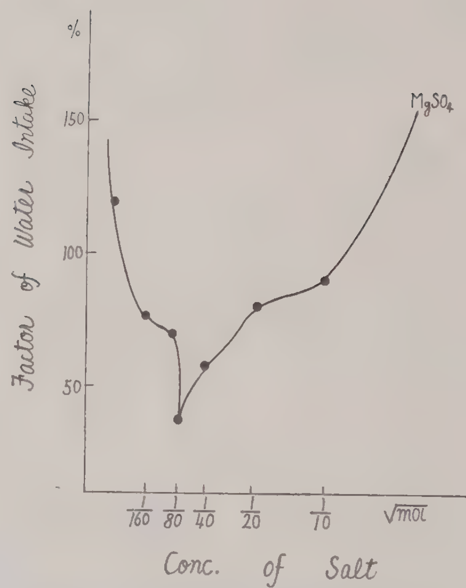


Fig. 4. The same as in Fig. 1 but that the salt consists of di-valent ions.

考　　察

中性塩はある一定の低濃度で生肉の吸水率を著るしく低下し，吸水極小値を与える。その時の濃度はイオン強度（μ）に関係があり，その塩の 1 mol 濃度を normal 濃度で表わした数を N とすると次式が成立する。

$$N \cdot \mu = 0.1 \qquad \text{(II)}$$

またイオン強度 μ は，その溶液のイオン濃度を V_i とし，そのイオンが完全に解離した時のイオンの荷電数を Z_i とすれば $\mu = \frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2$ となるから（II）式はつぎのようになる。

$$N \cdot \frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 = 0.1 \qquad \text{(I)}$$

N は恒数で $N = \frac{1}{2}\sum_i |Z_i|$ となるから（I）式はつぎのように書きかえられる。

$$\frac{1}{2} \cdot \sum_i |Z_i| \times \frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 = 0.1 \qquad \text{(III)}$$

今，アニオン，カチオンとも1価の塩類，どちらか一方が1価と2価のもの，両者とも2価の塩について（III）式を満足する V_i を計算すると Table 1 のようになる。

Fig. 1～Fig. 4 の実験結果を見ると（III）式から計算して得た値を満足する濃度でいずれも吸水率に極小値を示しており計算濃度と実験的に得た濃度が全く一致するので III[1)], IV[2)] 報で推定した考えは本実験に使用した 12 種の塩類には例外なく適用できることが判る。

つぎに Fig. 3 の $MgCl_2$ は少し異なっていて，M/60 濃度では小さな吸水極小値しか作らず M/30 濃度で大きな吸水極小値を示すが，これはつぎのように考えられる。

$BaCl_2$, $CaCl_2$ は強塩基と強酸とからなる塩であるので，水溶液ではつぎのように解離してほとんど加水分解を受けない。

Table 1. Calculation of V_i, the salt concentration at which the fish flesh shows a minimum water intake, for various salts.

Salt \ Equation and Solution	$\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i \lvert Z_i\rvert = 0.1$	V_i (mol)
NaCl, KCl, NH_4Cl, NaF, KI, LiCl	$\frac{1}{2}\left\{V_i\times(+1)^2+V_i\times(-1)^2\right\}\times\frac{1}{2}\left\{\lvert+1\rvert+\lvert-1\rvert\right\}=0.1$	$\frac{1}{10}$
$(NH_4)_2SO_4$, Na_2SO_4	$\frac{1}{2}\left\{V_i\times(+1)^2\times 2+V_i\times(-2)^2\right\}\times\frac{1}{2}\left\{\lvert+1\rvert\times 2+\lvert-2\rvert\right\}=0.1$	$\frac{1}{60}$
$CaCl_2$, $BaCl_2$, $MgCl_2$	$\frac{1}{2}\left\{V_i\times(+2)^2+V_i\times(-1)^2\times 2\right\}\times\frac{1}{2}\left\{\lvert+2\rvert+\lvert-1\rvert\times 2\right\}=0.1$	$\frac{1}{60}$
$MgSO_4$	$\frac{1}{2}\left\{V_i\times(+2)^2+V_i\times(-2)^2\right\}\times\frac{1}{2}\left\{\lvert+2\rvert+\lvert-2\rvert\right\}=0.1$	$\frac{1}{80}$

V_i: Molar concentration of the i-th ion. Z_i: Valency of the i-th ion.

$$CaCl_2 \longrightarrow Ca^{++} + 2\,Cl^-, \qquad BaCl_2 \longrightarrow Ba^{++} + 2\,Cl^-$$

ところが Mg は弱塩基であるため強酸である HCl との塩である $MgCl_2$ は水溶液ではつぎのように加水分解を受けると考えられる。

$$MgCl_2 \xrightarrow{(1)} Mg^{++} + 2\,Cl^-, \qquad Mg^{++} + 2\,Cl^- + H_2O \xrightarrow{(2)} Mg^+(OH) + Cl^- + HCl$$

したがつて加水分解を受けない場合には $BaCl_2$, $CaCl_2$ と同様に M/60 濃度で吸水極小値を示すと考えられるので，Fig. 3 においても M/60 濃度のところに一つの小さな吸水極小値が見られる。仮に加水分解を受けて（2）式のように解離するものとすれば（Ⅲ）式における計算中 $\frac{1}{2}\sum_i \lvert Z_i\rvert$ の項は $\frac{1}{2}\left\{\lvert+1\rvert+\lvert-1\rvert\right\}=1$ となるため V_i は M/30 となる。したがつて Fig. 3 において M/30 のところに大きな極小値がある。それ故 $MgCl_2$ は二つの極小値を与えることから考えると水溶液では（1）と（2）の形に解離していて二つの形で蛋白質に作用していると考えられる。また $MgCl_2$ 溶液は pH が低いため pH の低下に帰因する吸水率の低下がかなり大きく作用していると考えられる。

塩の加水分解度（α）は α＝〔H^+ イオンの濃度〕/〔塩の全濃度〕，であるから溶液の pH を測定することによつて加水分解度は計算できる。$MgCl_2$ の M/10～M/100 溶液について加水分解度を調べると非常に小さいことが判る。しかるに $MgCl_2$ は M/30 のところで吸水率を著るしく低下せしめて M/60 濃度におけるよりははるかにその低下の度合は大きい。これは $MgCl_2$ が肉蛋白質の吸水率を低下せしめる場合に（$Mg^{++} + 2\,Cl^-$）の解離形式においてよりも（$Mg^+(OH) + Cl^-$）の解離形式においてなお一層強力に作用しているのではないかと考えさせられる。

Fig. 4 をみると $MgSO_4$ においては M/80 濃度で極小値がみられ，つぎに M/40 濃度附近にも不明瞭な極小値がみられる。この場合も Mg は弱塩基のため水溶液では加水分解を受けてつぎのように解離すると考えられる。

$$2\,MgSO_4 + 2\,H_2O \longrightarrow 2\,Mg^+(OH) + SO_4^{--} + H_2SO_4$$

したがつてこのように解離するとすれば（Ⅲ）式における $\frac{1}{2}\sum_i \lvert Z_i\rvert$ は $\frac{1}{2}\left\{\lvert+1\rvert\times 2+\lvert-2\rvert\right\}=2$ となり，$MgSO_4$ は 2 分子であるからその $\frac{1}{2}$ となつて $\frac{1}{2}\sum_i \lvert Z_i\rvert = 1$ となるため（Ⅲ）式を満足する V_i は M/40 となる。したがつて M/40 濃度附近ででも吸水極小値を示すのではないかと考えられる。$MgCl_2$, $MgSO_4$ の実験からその塩が二段に解離するものでは（Ⅲ）式の $\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2$ の項と $\frac{1}{2}\sum_i \lvert Z_i\rvert$ の項の Z_i の値が異なることが判る。したがつて二段階以上に解離するものでは Z_i を区別せねばならない。イオン強

度における Z_i はその塩が完全に電離した時にもつイオンの荷電数であるが $\frac{1}{2}\sum_i |Z_i$ の Z_i はその塩のある解離段階におけるイオンの荷電数である。したがつて (III) 式は $\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i |Z_i'|$ ……(IV) とする方が正しいように考えられる。これについては VIII 報において詳しく説明する。

生魚肉に塩を加えると吸水率が低下し，吸水極小値を示すが，Fig. 1 をみると明らかなように吸水率の低下は塩濃度が稀薄なところで非常に急激であつて吸水極小点附近で低下率小さく，吸水極小点をすぎて塩濃度を高めて行くと吸水率は回復するが，その回復は KI の場合を除いてはかなり徐々である。KI では回復が早いが，これは KI 溶液は pH が高いので pH による効果が大きく作用するのであろう。C.E. SWIFT and REX ELLIS[3] は KI は特異的に肉類の保水力を高めることを報告しており，筆者も KI はねり製品の「足」を著るしく強めることを認めている[4] が Fig. 1 からも，KI は魚肉の吸水力に特異的に作用するように思われる。

IV報[2] で少し考察を試みたが低濃度の塩類によつて吸水率が著るしく急激に低下するのは強電解質である塩類が電離するため，塩類が存在しない時に解離していた蛋白質の親水性基の解離が抑えられるため蛋白質は恰かも等電点に置かれたようになつて膨潤しなくなり，吸水力が低下するのではないかと考えられる。また吸水極小点を過ぎて溶液の塩濃度が濃くなると，電離した塩のイオンが蛋白質に吸着され，吸着されたイオンのために蛋白質自身が電荷を持つたのと同じような結果となつて再び膨潤するのであろう。Fig. 5 から判るように塩添加による吸水率の低下は急激であつて回復は遅い。食塩のようにカチオン，アニオンともに1価の二元電解質では濃度目盛りを濃度の平方根とすれば，Fig. 5 の破線のようになつて吸水率の低下と回復が対称的となる。肉蛋白質が吸水極小点を境として吸水率が塩類濃度によつて増減する理由は先に述べたように想像の域を出ないが，二元電解質では濃度の平方根をとれば吸水曲線が対称的となることは KOHLRAUSH 氏の平方根律[5] と考え合わせて非常に興味のあることであり，また三元電解質の $CaCl_2$ の場合には濃度の対数を横軸にとれば，吸水率曲線が NaCl において濃度の平方根をとつた時のように対称的な曲線となる。これらの事実は非常に興味のあることであつて，肉蛋白質の塩類溶液における挙動を解く何等かの端緒となる可能性も考えられるところである。

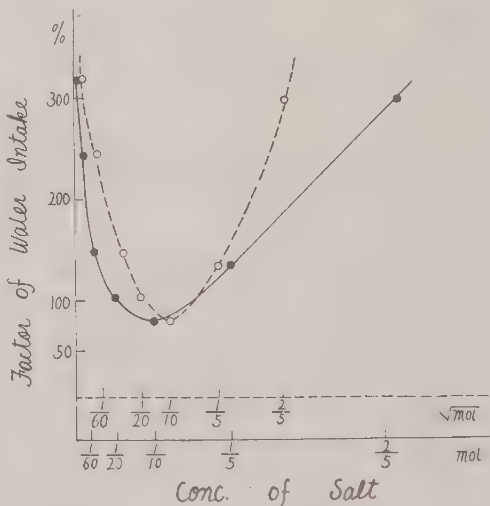


Fig. 5. Relation between the concentration of table salt and the factor of water intake of fish flesh, sea-eel.
Full line: The concentration is shown by molar concentration. Broken line: The concentration is shown by the squar root of molar concentration.

要　　約

食塩，ピロ燐酸ソーダ，トリポリ燐酸ソーダの実験から先に「中性塩類はある低濃度において生肉の吸水率を著るしく低下し，吸水極小値を与える。この時の濃度はイオン強度 (μ) に関係があり，その塩の 1 mol 濃度を normal 濃度で表わした数を N とすると $N\cdot\mu = 0.1$, $\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum V_i = 0.1$, ($V_i$: イオン濃度，$Z_i$: その塩が完全に解離した時のイオンの荷電数) なる関係がある」ということを提唱した。この提唱が一般の塩類にも適用できるかどうかを試験した結果

i) アニオン，カチオンとも1価の塩: KCl, LiCl, NH_4Cl, NaF, KI, NaCl.

ii) アニオン2価，カチオン1価の塩: $(NH_4)_2SO_4$, Na_2SO_4.

iii) アニオン1価，カチオン2価の塩: $CaCl_2$, $BaCl_2$, $MgCl_2$.

iv) アニオン，カチオンとも2価の塩: $MgSO_4$.

以上 12 種の塩類ではいずれも例外なく上の関係が成立することを認めた。

付　　記

絶えず御指導を戴いた大阪市立衛生研究所の糸珍俊夫博士，久保正徳博士，田中薫樹博士の諸先生方に厚く感謝申し上げる。

文　　献

1) 岡村一弘，松田敏生，横山理雄: 本誌，**24**, 10, 826 (1959).
2) 岡村一弘，松田敏生，横山理雄: 本誌，**24**, 12, 978 (1959).
3) C.E. SWIFT and REX ELLIS: Food Tech., **10**, 11, 546 (1956).
4) 岡村一弘，松田敏生，横山理雄: 本誌，**24**, 12, 991 (1959).
5) 千谷利三著: 改稿一般物理化学，上巻 p. 358, p. 412,〔昭和 21 年，内田老鶴圃刊〕.

魚肉ねり製品の研究—VIII.*

生魚肉の吸水力におよぼす各種塩類の影響 (その2)

岡 村 一 弘

(1959 年 8 月 20 日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO", FISH JELLY, AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—VIII.

INFLUENCE OF ADDED SALT UPON THE WATER INTAKE OF FISH FLESH (PART II.)

Kazuhiro Okamura**

In the present paper, further evidences are presented which favor the previously offered view[3] that the ability of water intake of a fish flesh retires to an extremity when the flesh is brought into contact with a salt solution of a certain definite ionic condition irrespective of the kind of salt which constitutes the solution. Using a flesh of sea-eel previously washed with water, the factor of water intake was determined for dilute salt solutions varied in concentration. The salts examined were sodium acetate, sodium oxalate and ammonium oxalate as examples of salt of organic acid, sodium bicarbonate and potassium monohydrogen phosphate, as examples of acid salt sodium pyrophosphate and sodium tripolyphosphate as examples of such acids as capable of liberating polyvalent anions.

The results of the present experiment may be summarized as follows:

i) The ability of water intake of fish flesh previously washed with water is depressed down to a minimum when the flesh is brought into contact with a dilute solution of any kind of salt examined, which satisfies a definite ionic condition. Thus, for a salt that undergoes m staged dissociations, the fish flesh is possible to form m numbering valleys of water intake.

So far as salts consisting of ions of strong acid and base are concerned, attainment of a minimum of water intake is realized when ionic concentrations of the salt sodution satisfy the equation

$$\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_i |Z_i'| = 0.1$$

where V_i stands for molar concentration of the i–th ion, Z_i for the valency of the i–th ion set free in the solution when electrolytic dissociation of the salt has advanced to completion, while Z_i' represents the valency of the i–th ion of the salt as existing in a certain intermediate stage of dissociation as a result of hydrolysis.

In the case of a salt comprising an ion or ions of weak electrolyte, on the other hand, the relation of the above equation does not strictly hold, actual salt concentration that corresponds to a minimum of water intake shifting to a value 1.5～2 times as high as that calculated from said equation.

ii) Phosphates (ortho-, pyro- and tripoly-phosphate) behave quite uniquely with regard to their influence upon the water intake of fish flesh. For instance, any one of their phosphates at a certain low concentration strongly depresses the water intake even in the presence of NaCl or KCl at a concentration of 1/2 mol. It is worthy of note that the concentrations at which a phosphate causes a fish flesh to show valleys of water intake are senstively displaced

* 本研究は昭和 34 年 4 月 1 日，日本水産学大会において報告した。
** 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Laboratory).

with the lapse of time during which the fish flesh washed with water is kept out of contact with the phosphate solution; such a situation has never been met with in the case of any salts other than phosphates.

中性塩類は $N\cdot\mu = 0.1$ (μ はイオン強度，N は恒数で塩が解離したときのイオンの荷電数を Z_i とすると $N = \frac{1}{2}\sum_i |Z_i|$) なる濃度で生魚肉の吸水率に極小値を与えるということを III[1]，IV[2] 報で観察し，VII[3] 報では KCl, Na_2SO_4, $CaCl_2$, $MgSO_4$ 等 12 種類の塩類についてこの観察は例外なく正しいことを実験的に確めた。また VII[3] 報の実験結果から二，三の知見を得たので本報ではさらにアニオン 3 価以上の塩として燐酸塩類，有機酸塩として酢酸塩，蓚酸塩，分子内に酸性基の水素を持つ塩として重炭酸塩，第二燐酸塩等が生肉の吸水率にどのような作用をするかを試験した。その結果と二，三の考察についてここに報告する。

実験および結果

実験材料，実験方法： VII[3] 報と同種の材料（ハモ肉）を使用し，同じ方法によつた。

実験結果： Fig. 1～Fig. 8 に掲げる通りである。

i） 重炭酸ソーダでは Fig. 1 のように M/30 濃度で吸水極小値がみられる。

ii） 酢酸ソーダでは Fig. 2 のように M/5 濃度で吸水極小値が見られ，M/20～M/10 濃度附近に小さな吸水極小値の谷がみられる。この谷は数回実験を繰返し確認したもので実験誤差ではない。

iii） 蓚酸ソーダと蓚酸アンモンについて調べた結果は Fig. 3 の通りであつて概観すると吸水極小値は M/60～M/10 濃度のところにあるが，細かく観察すると極小値が 3 つあつて蓚酸ソーダでは M/45, M/20, M/10 のところにあり，蓚酸アンモンでは M/30, M/15, M/10 のところにある。この興味ある結果については考察の項で詳しく述べる。

iv） 第二燐酸カリについて調べた結果は Fig. 4, Fig. 5 であつて事態は非常に複雑である。Fig. 4–I の曲線は K_2HPO_4 の M/10 溶液を HCl で pH 7.0 に中和した後稀釈して使用したときの吸水曲線である。この場合，中和によつてできた KCl が水洗魚

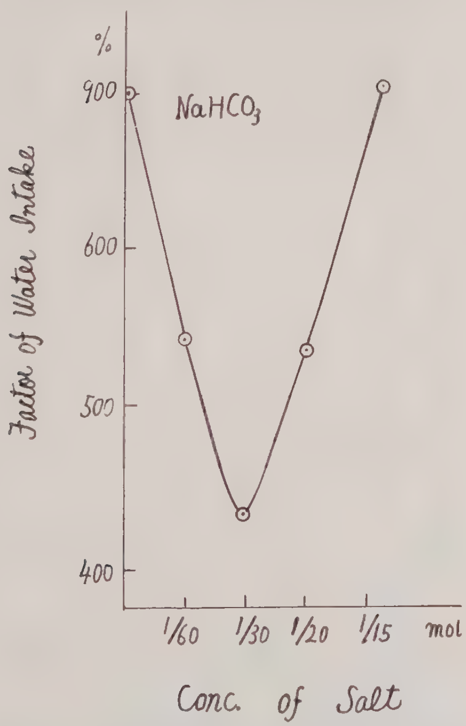


Fig. 1. The affinity of fish flesh with water in a range of low concentration of added salt.
Fish: Sea-eel (Muraenosox cinereus),
Salt: Sodium bicarbonate.

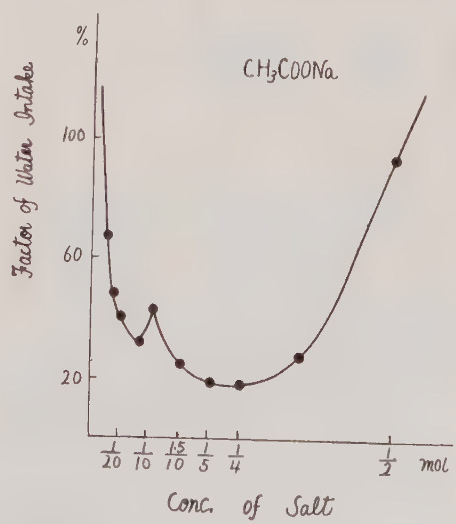


Fig. 2. The same as in Fig. 1 but that the salt is sodium acetate.

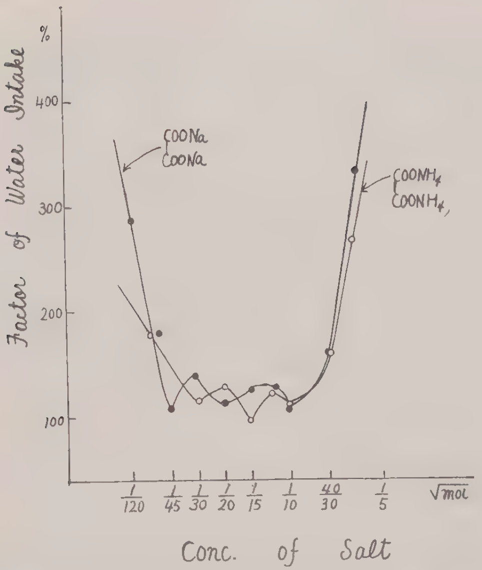


Fig. 3. The same as in Fig. 1 but that salts are sodium oxalate and ammonium oxalate.

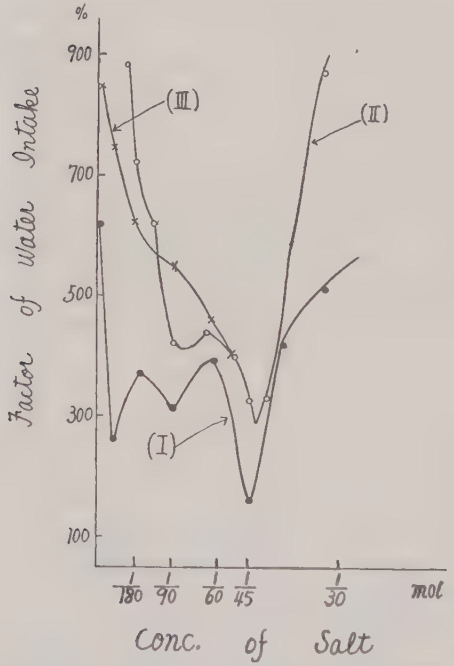


Fig. 4. The same as in Fig. 1 but that the salt is potasium phosphate.

(I): Available salt solutions were prepared from 1/10 mol K_2HPO_4 solutions by neutralization to pH 7.0 with HCl and dilution to specified concentrations with 1/2 mol KCl.

(II): K_2HPO_4 solutions were used without neutralization and KCl addition.

(III): The same as in (II) but that a fish flesh washed with water was used after storage for 2 days at 3°C.

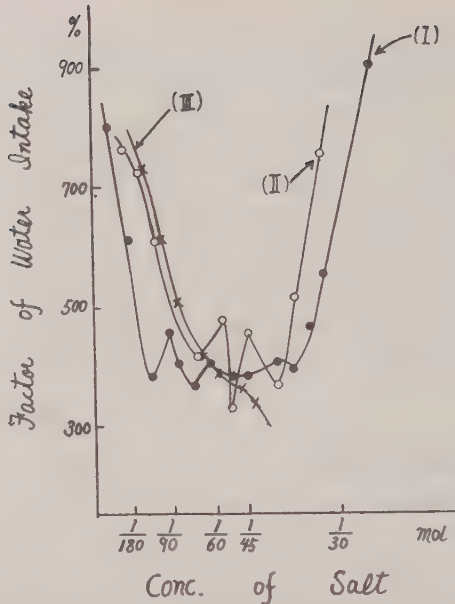


Fig. 5. The displacements of the values of salt concentration for minimum water intake caused by leaving a fish flesh washed with water variously long in a refrigerator at 3°C.

(I): Fish flesh was used within 8 hours after washing with water.

(II): The washed flesh was kept at 3°C for 8～14 hours before the test.

(III): The washed flesh was kept at 3°C for 14～18 hours before the test.

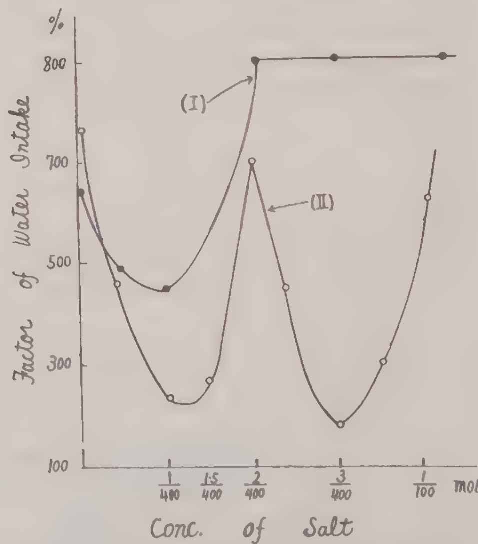
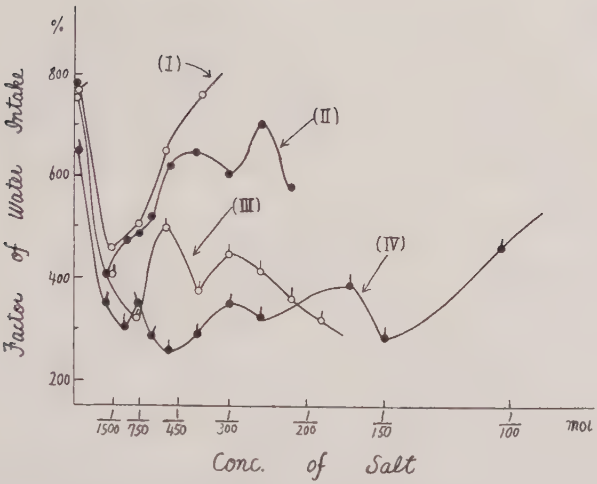


Fig. 6. The same as in Fig. 1 [but the salt is sodium pyrophosphate ($Na_4P_2O_7$).

(I): Sodium pyrophosphate.

(II): 1/20 mol solution of $Na_2P_2O_7$ was neutralized to pH 7.0 with HCl and used after dilution with 1/2 mol NaCl.



(I): Comparatively fresh fish was used without washing; the phosphate was used as dissolved in 1/2 mol NaCl.
(II): The same as in (I) but that the washed flesh was kept at 3°C for 3 days before the test.
(III): The salt solutions were prepared from 1/20 mol $Na_5P_3O_{10}$ by neutralization to pH 7.0 with HCl followed by dilution with 1/2 mol NaCl. Fish flesh was used in the day of its washing with water.
(IV): The same as in (III) but that the washed fish was brought into contact witn salt solution after storage of 24 hours at 3°C.

Fig. 7. The relations between water intake and environmental concentration of sodium tripolyphosphate ($Na_5P_3O_{10}$) as variable with the freshnes of fish flesh washed or not washed with water.

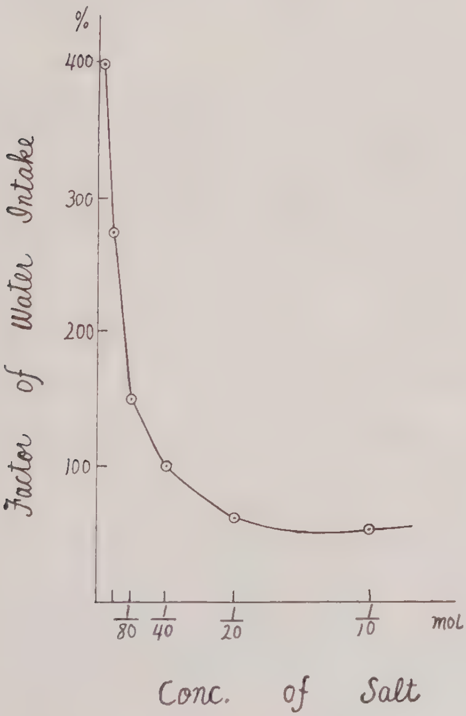


Fig. 8. Depression in the factor of water intake of washed fish flesh (sea-eel) Caused by addition of KCl in a range of low concentration.

肉では吸水率に大きく影響するので，それをさけるため水の代りに KCl 3.7% (M/2) 溶液を用いた。水洗魚肉では M/320～M/160 程度の KCl ででも非常に著るしく吸水率が低下する (Fig. 8 参照)。しかし一旦加えた M/2 程度の KCl とか NaCl の存在下では燐酸塩類以外の塩類を低濃度に追加してみてもほとんど吸水率は低下しない。しかるに考察のところで述べるように燐酸塩類は例外的であつて M/2 濃度の NaCl, KCl の存在下でも低濃度の添加で吸水率を低下せしめる。

Fig. 4 の曲線 (I) では M/360, M/90, M/45 濃度附近で明確な吸水極小値が見られる。Fig. 4 の曲線 (II) は K_2HPO_4 を中和しないでそのまま用い，KCl を添加しなかつたときの水洗魚肉の吸水率曲線であつて M/90, M/45 濃度のところに吸水極小値がある。Fig. 4-(III) の曲線は曲線 (II) と同じ条件下で行なつた実験であるが，水洗魚肉を冷蔵庫に 2 日間保存したところ M/90 濃度における極小値が消失したことを示している。Fig. 4 の結果は非常に興味ある結果であつて，曲線 (I) では極小値が 3 つできるのに曲線 (II) では極小値が 2 つしかできず，また曲線 (III) では極小値は 1 つしか認められない。(曲線 (III) の極小値はこの実験では判らなかつた。)

Fig. 5 の実験は Fig. 4 の (II), (III) と同じ実験であるが，Fig. 4 の実験において魚肉を洗つて放置すると吸水曲線が変化することを知つたので，それをさらに詳細に試験した結果である。

Fig. 5 の (I) は水洗後 8 時間以内の魚肉について，(II) は水洗後 8～14 時間の魚肉について，(III) は

水洗後 14～18 時間の生魚肉について K_2HPO_4 による吸水極小濃度を調べたものである。

Fig. 5 の（Ⅰ）では M/120, M/60, M/45 濃度附近にそれぞれ 3 個の吸水極小値がみられ，（Ⅱ）では（Ⅰ）の極小値の谷がかなり高濃度の方へずれているようであつて M/60, M/50, M/35 濃度附近に極小値が見られる。（Ⅲ）では M/45 附近にただ 1 個の極小値があるように推定される。考察の項でも述べるが，燐酸は三塩基性酸であつて解離も複雑であり，魚肉蛋白質分子中にも燐酸基が結合されており，これらが微妙に作用し合うのであろう。

v) Fig. 6 はピロ燐酸ソーダ (P·P·Na) の吸水率曲線で，（Ⅰ）は P·P·Na の溶液を中和しないでそのまま用いた実験であつて M/400 濃度で吸水極小値がみられる。曲線（Ⅱ）は HCl で P·P·Na 溶液 M/20 を pH 7.0 に中和した溶液を用い，中和によつてできた NaCl の影響を除くため NaCl 濃度 3% (M/2) となるように NaCl を添加した場合の P·P·Na による生肉の吸水率変化である。この場合 M/400, 3M/400 附近に非常に明確な吸水極小値がみられる。中和しない場合曲線（Ⅰ）では pH が非常に高いので第二の吸水極小値は pH の上昇による吸水率の増加のせいで隠蔽されているものと思われる。

vi) Fig. 7 はトリポリ燐酸ソーダ（T·P·Na）溶液の吸水率曲線である。曲線（Ⅰ）は T·P·Na を用い NaCl を M/2 添加した比較的新らしい洗わないハモ魚肉を使用した場合の吸水率曲線であつて M/1500 濃度に吸水極小値がみられ，M/1500 より T·P·Na が濃くなれば吸水率は増大して第二の極小値を現わさない。曲線（Ⅱ）は水洗ハモ肉の水洗後 3 日間を経たものの M/2 NaCl 溶液における吸水率曲線におよぼす T·P·Na の影響を示すものであつて，（Ⅰ）と同じく M/1500 で吸水極小値がみられ，さらに M/300 でも吸水極小値が見られる。

曲線（Ⅲ），（Ⅳ）は洗つたハモ肉に対する M/2 NaCl 溶液における中和した T·P·Na 溶液 (pH 7.0) の影響を示す吸水率曲線であつて（Ⅲ）では水洗直後のもの，（Ⅳ）では水洗後 1 日を経過したものを用いた。（Ⅲ）では M/750, M/375 に吸水極小値があり，（Ⅳ）では M/900, M/500 附近に吸水極小値がある。また（Ⅳ）では M/300 濃度以上では実験があまり詳細ではないが，M/250, M/150 附近にも吸水極小値があるようである。（Ⅲ），（Ⅳ）の曲線から判るように魚肉の新鮮度が変化すれば吸水極小値の谷もずれる。また（Ⅰ），（Ⅱ）と（Ⅲ），（Ⅳ）とを比較すれば明らかなように T·P·Na 溶液そのままと中和したものとでは吸水極小塩濃度が異なることを認めた。

考　　　察

塩類はつぎの式を満足する濃度で生肉の吸水率に極小値を与えることを第 Ⅶ 報で確認した。

$$\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i |Z_i| = 0.1 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (\text{I})$$

Fig. 1 の $NaHCO_3$ では M/30 において吸水極小値を与えるが，この場合には $NaHCO_3 \rightarrow Na^+ + HCO_3^-$ と解離するため（Ⅰ）式において $\frac{1}{2}\sum_i |Z_i| = 1$ となると考えれば（Ⅰ）式を満足する V_i の濃度は M/30 となつて実験結果と計算値とがよく一致する。しかしイオン強度を示す項の $\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2$ における Z_i はその塩が完全に解離した場合のイオンの荷電数である。しかるに $NaHCO_3$ の場合には重炭酸イオンが炭酸イオンにまで解離するとして計算しては具合が悪いのでこの（Ⅰ）式の二つの Z_i はそれぞれ区別されねばならない。したがつて後ほども述べるが（Ⅰ）式はつぎのようになる。

$$\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i |Z_i'| = 0.1 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (\text{II})$$

酢酸ソーダでは（Ⅰ）式を満足する濃度は M/10 となるが Fig. 2 の結果は M/10 附近と M/5 濃度に 2 個極小値がある。酢酸は弱酸であり苛性ソーダは強塩基であるため酢酸ソーダ溶液はつぎのように電離して一部分は加水分解を受けると考えられる。

$$CH_3COONa \longrightarrow CH_3COO^- + Na^+,\quad CH_3COO^- + Na^+ + H_2O \longrightarrow CH_3COOH + Na^+ + OH^-$$

したがつて加水分解によつてできた NaOH のために M/10 濃度のところに小さい吸水極小値を示す。また CH_3COONa は NaCl などに比較して弱電解質のために M/10 濃度で吸水極小値を示さずに高濃度側に吸水極小濃度がずれると考えられる。

蓚酸ソーダ，蓚酸アンモンの実験 (Fig. 3) について考えると蓚酸ソーダは水溶液でつぎのように解離し，また加水分解を受ける。

$$\begin{matrix}\text{COONa}\\|\\\text{COONa}\end{matrix} \xrightarrow{(1)} \begin{matrix}\text{COONa}\\|\\\text{COO}^-\end{matrix} + Na^+ \xrightarrow{(2)} \begin{matrix}\text{COO}^-\\|\\\text{COO}^-\end{matrix} + 2Na^+$$

$$\begin{matrix}\text{COONa}\\|\\\text{COO}^-\end{matrix} + Na^+ + H_2O \xrightarrow{(3)} \begin{matrix}\text{COONa}\\|\\\text{COOH}\end{matrix} + Na^+ + OH^-$$

したがつて (2) 式の解離では（II）式を満足する濃度は M/60 となり，(1) 式の解離では M/30, (3) 式の解離では M/10 となると考えられる。蓚酸アンモンにおいても同様のことがいえる。しかるに Fig. 3 から判るように蓚酸ソーダでは M/45, M/20, M/10 に，蓚酸アンモンでは M/30, M/15, M/10 に吸水極小点が見られる。これは有機酸塩は鉱酸より弱電解質であるため吸水極小濃度が（II）式から計算された濃度より高濃度側にずれる結果だと考えられる。蓚酸アンモンは蓚酸ソーダより弱い電解質であるために蓚酸ソーダより一層高濃度側にずれる。酢酸ソーダの場合約 1.5 倍濃度にずれたが蓚酸ソーダの場合も 1.5 倍濃度にずれており，蓚酸アンモンでは 2 倍濃度にずれている。また蓚酸ソーダ，蓚酸アンモンとも M/10 濃度附近に吸水極小値があるが，これは恐らくこれら二塩の加水分解によつてできた NaOH に基因する吸水極小値であろうと考えられる。Fig. 2 の酢酸ソーダの場合も M/10 附近に一つの極小値があつたのと同様であると考えられる。

Fig. 1 の $NaHCO_3$ では M/30 濃度で吸水極小値を示し，（II）式の計算濃度とよく一致する。炭酸は弱酸のために先の有機酸塩の場合と同様に吸水極小濃度が高濃側にずれるようにも考えられるが，炭酸は一般にいわれているほど弱電解質ではない。「炭酸が弱電解質と考えられるのは H_2CO_3 の水中生成量が著るしく微少だからで，炭酸 H_2CO_3 の真の電離恒数は通常記載されている数値の2000倍内外のものであろう」[4] といわれていることから Fig. 1 の結果はうなずける。

つぎに正燐酸塩について考えると，第三燐酸のアルカリ塩はその水溶液が非常にアルカリ性が強いために pH による吸水率増加の作用が強く実験が不可能である。

そこで第二燐酸カリを用いて実験を行なつた。第二燐酸カリはつぎのように解離する。

$$K_2HPO_4 \xrightarrow{(1)} K^+ + KHPO_4^- \xrightarrow{(2)} 2K^+ + HPO^{--} \xrightarrow{(3)} 2K^+ + H^+ + PO_4^{---}$$

$$\rightarrow 2K^+ + HPO_4^{--} + H_2O \xrightarrow{(4)} K^+ + KHPO_4^- + KOH$$

(1), (2) の解離形式においては（II）式を満足する濃度は (1) では M/60 となり (2) では M/120 となる。Fig. 4 の曲線（II）の極小値は M/90 と M/45 のところにあるが，これは恐らく M/60 と M/120 濃度の値が高濃度側にずれたものと考えられる。この原因は酢酸塩，蓚酸塩で述べたのと同様，塩酸塩，硫酸塩等に比べて燐酸塩は解離度が低いためであろう。(4) 形式の解離も考えられるが，この場合には吸水極小濃度は計算上からは M/180 となる。ところが加水分解してできた KOH，またはその KOH と水中の何等かの物質と結合してできた K イオン等に影響されて M/180 における極小値は隠蔽されていると考えられる。例えば低濃度に KCl を加えた時の木綿布の吸水率は KCl 無添加では吸水率 400%, M/360 添加で吸水率は 280%, M/160 で 205%, M/100 で 187%, M/80 で 146%, M/40 で 100%, M/10 で 53% であつて，Fig. 8 のようになり VII 報[3]でも述べたように吸水率の低下割合は塩の低濃度側において非常に急激であるため，加水分解してできた KOH，またはその KOH からできた塩のイオンが少量であつても，これが吸水率低下に著るしく影響すると考えられる。

したがつてこの影響をなくしてやれば M/180 附近で極小値が現われる筈である。Fig. 4 の曲線（I）は

K_2HPO_4 の M/10 溶液を HCl で pH 7.0 に中和し，中和によつてできた微量の KCl の影響を無視できるように KCl を M/2 溶液となるように添加して実験した。Fig. 4–(I) から明らかなようにこの場合 M/360 と M/90, M/45 附近で吸水極小値がみられる。(II) 式を満足する計算値は M/180, M/120, M/60 であるが，実験結果は M/180 → M/360, M/120 → M/90, M/60 → M/45 とずれている。この第二，第三の吸水極小値が高濃度側にずれるのは Fig. 4 の曲線 (II) で説明したのと同様の理由によると考えられる。第一極小濃度が低濃度側にずれる (M/180 → M/360) 理由は明確ではないが，荷電数の大きい電解質ではイオンの強さは $\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2$ によつて計算される値よりも実際はさらに大きいと考えられる*上に非常に低濃度のために第二，第三の吸水極小値のように解離恒数の関係によつて高濃度側にずれることがないからであろうと考えられる。曲線 (III) は曲線 (II) と同じ実験であるが，ハモ肉を水洗し，水洗後の時間によつて吸水率が変化することを示す。

Fig. 5 の (I) は水洗後 8 時間以内の吸水率曲線であつて，M/120, M/70, M/50 附近で極小値が見られ水洗後 8～14 時間のものでは M/70, M/50, M/45 のところに極小値がみられ，(III) 曲線は水洗後 14～18 時間のもので吸水極小値は M/40 附近に 1 個あるように考えられる。Fig. 4 の曲線 (II) と (III) においても同様であつて，燐酸塩の場合には魚肉の鮮度の新旧によつて吸水率曲線は変化する。また水洗してエキス分を除いた魚肉では低濃度の各種塩類によつて著るしく吸水率が低下する (VII 報および本報の実験より明らかである。)

しかるに NaCl とか KCl をその吸水極小濃度以上に加えてやつて吸水率を恢復させたものでは燐酸塩類以外の塩類では容易に吸水率が低下しない。したがつてこの場合には (II) 式を満足するような濃度では吸水率はほとんど低下せず，吸水極小値をも与えない。このことは色々の塩類について確認している (未発表)。ところが正燐酸塩，ピロ燐酸塩，トリポリ燐酸塩等では Fig. 4, 5, 6, 7 の結果から判るように NaCl, KCl を M/2 添加した場合においてもほぼ (II) 式を満足する濃度で吸水率が低下する。したがつて燐酸塩類は非常に特異的であることが判る。これは非常に重要な事象であるように思われる。

ピロ燐酸ソーダの場合，すなわち Fig. 6 の (I) は中和しない P·P·Na のみの吸水率曲線であつて M/400 濃度で吸水極小値がみられる。曲線 (II) は HCl で中和した P·P·Na 溶液で NaCl 濃度 M/2 になるようにして実験した結果であつて，M/400, 3 M/400 濃度に吸水極小値がみられる。

$$Na_4P_2O_7 \xrightarrow{(1)} Na^+ + Na_3P_2O_7^- \xrightarrow{(2)} 2\,Na^+ + Na_2P_2O_7^{--}$$
$$\xrightarrow{(3)} 3\,Na^+ + NaP_2O_7^{---} \xrightarrow{(4)} 4\,Na^+ + P_2O_7^{----}$$

したがつて (II) 式を満足する濃度は M/400, M/300, M/200, M/100 となるが，Fig. 6 の実験の場合には主として (3) 段と (4) 段の解離形式による吸水極小値が見られるように思われる。Fig. 6 の曲線 (I) では pH が高いため第二の吸水極小値は隠蔽される。

最後にトリポリ燐酸ソーダによる吸水極小濃度を調べた結果を Fig. 7 でみると曲線 (I), (II) では M/1500 で極小値がみられ，曲線 (II) では M/300 附近にも極小値がみられる。曲線 (I) は水洗直後のもの，曲線 (II) は水洗後 2 日を経過した魚肉の場合であつて新鮮魚肉では極小値が 1 個しかみられず，古くなると M/300 附近にも極小値が見られ，さらに M/200 附近にも極小値があるようにうかがえる。曲線 (III), (IV) は中和した T·P·Na の 3% NaCl 存在下における吸水率曲線で (III) は水洗後新らしいもの，(IV) は水洗後日数の経過したもので，T·P·Na も水洗後の時間によつて吸水極小点がずれることが判る。

曲線 (III) では M/750 と M/400 附近に極小値があり，曲線 (IV) では M/900, M/500, M/250, M/150

* 本報ではイオンの強さを表わすのにイオン強度 (μ) を使用しているが電解質があずかる化学変化ではイオン強度の代りにその活動量を用いる方がより適切である。イオン活動係数は M/10 以下では濃度が低いほど大きい。しかるに荷電数の大きな塩では荷電数の小さい塩に比較して吸水極小濃度が著るしく低濃度となるため，イオンの強さを表わすのにイオン強度をもつてすれば，荷電数の大きな塩では計算値よりもさらに大きくなると考えられる。

附近に吸水極小値がある。先に述べたように燐酸塩類の場合には肉の水洗後の時間によつて吸水極小濃度がずれるためにそれらの解析は非常に複雑である。

トリポリ燐酸は5価であるため，水溶液は5段に解離する。これらの各解離段階において（II）式を満足する濃度は M/750, M/600, M/450, M/300, M/150 の5つである。しかし色々の要因のためにこの計算による吸水極小濃度はずれると考えられる。

Fig. 7 の曲線（IV）では充分な実験結果とはいえないが吸水極小濃度は4個認められる。この4個の極小値のうち M/750, M/450, M/150 濃度における極小値は（II）式から計算した値と全く一致している。したがつて先に提案した（II）式は T·P·Na の場合にもほぼ適用できる。

本報の実験結果から塩類は $\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i |Z_i| = 0.1$ を満足する濃度において水洗魚肉の吸水率に極小値を与えるという見解は酢酸塩，蓚酸塩，炭酸塩，燐酸塩類にも適用できることが明らかとなつた。しかし酢酸塩，蓚酸塩等の有機酸塩は吸水極小濃度が計算値より 1.5~2.0 倍高濃度の方にずれる。これは有機酸塩は弱電解質のためだと考えられる。また2段3段と幾段にも解離する塩では解離する各段階の解離形式に応じて解離段階数だけの吸水極小値がみられる。しかしてその時の吸水極小濃度は計算式（I）式においてイオン強度の項 $\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2$ はそのままであるが $\frac{1}{2}\sum_i |Z_i|$ の Z_i は完全解離した時の荷電数ではなく，その塩のある極小吸水率に該当する解離段階におけるイオンの荷電数である。しかるにイオン強度の場合の Z_i はその塩が完全解離した場合の荷電数であるから区別されねばならない。したがつてある解離段階におけるイオンの荷電数を Z_i' とすると（II）式のようになつて，この式は数段階に解離する塩が数個の吸水極小値を与える時のその濃度をすべて表わすこととなる。

したがつて第 VII[3)]報の実験結果から一般につぎのことがいえる。

生魚肉は低濃度の塩類添加によつてその吸水率を著るしく低下し，ある低濃度で吸水極小値を示す。これは塩類濃度とその解離形式に関係があり，その塩が m 段階の解離をする時には m 個の吸水極小値がみられる。この時の濃度すなわち吸水極小濃度 V_i はつぎの式によつて計算される。

その塩が完全解離した時の荷電数を Z_i とし，ある解離段階におけるその塩のイオンの荷電数を Z_i' とすると，

$$\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i |Z_i'| = 0.1$$

要　　約

VII 報に引続き主として有機酸塩，アニオンが3価以上の塩および分子内に酸性基の水素を持つ塩類等について先に提案した式 $\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i |Z_i'| = 0.1$ を満足する濃度で魚肉の吸水率に極小値がみられるかどうかを試験した。

すなわち酢酸ソーダ，蓚酸ソーダ，蓚酸アンモン，重炭酸ソーダ，第二燐酸カリ，ピロ燐酸ソーダ，トリポリ燐酸ソーダについて試験した結果つぎのことが判つた。

i） 生魚肉は低濃度の塩類添加によつてその吸水率を著るしく低下し，ある濃度で吸水極小値を与える。これは塩類濃度とその塩の解離形式に関係があり，その塩が m 段階の解離をする時には m 個の吸水極小値がみられる。この時の濃度すなわち吸水極小濃度 V_i はつぎの式によつて計算される。

その塩が完全解離した時の荷電数を Z_i とし，ある解離段階におけるその塩のイオンの荷電数を Z_i' とすると，

$$\frac{1}{2}\cdot\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\cdot\sum_i |Z_i'| = 0.1$$

しかし弱電解質では吸水極小濃度は上式から計算された濃度より高濃度側（1.5~2 倍濃度）にずれるようである。

ii) 魚肉の吸水率低下に作用する各種塩類のうち，燐酸塩類だけは非常に特異的であつて $\frac{1}{2}$ mol 濃度に NaCl または KCl が共存する場合でも非常に鋭敏に吸水率を低下せしめる。また燐酸塩類の場合には水洗魚肉の水洗後の時間とともに吸水率曲線が微妙に変化する。燐酸塩類以外の他の塩類ではこのような現象はさほど顕著でない。

附　　記

本研究を進めるに当り，大阪市立衛生研究所の茶珍俊夫博士，久保正徳博士，田中薫樹博士の諸先生方から絶えざる御鞭撻を戴いたことを附記して厚く感謝申し上げる。

文　　献

1) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：　本誌，**24**，10，826 (1959).
2) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：　本誌，**24**，12，998 (1959).
3) 岡村一弘：　本誌，**26**，1，60 (1960).
4) 千谷利三：　改稿一般物理化学，上巻，p. 396〔昭和 21，内田老鶴刊〕.

魚肉ねり製品の研究—IX.*

魚肉ソーセージに添加された人工着色料について（その1）

岡村一弘・横山理雄

(1959年8月20日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO", FISH JELLY, AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—IX.

DISCOLOURATION OF COLOURING MATTERS (*NEW COCCIN*) ADDED TO FISH SAUSAGE PRODUCTS (PART I.)

Kazuhiro OKAMURA** and Mitio YOKOYAMA***

In this paper, discolouration of a colour (*new coccin*) added to fish sausage products was studied. Determination of degree of the discolouration was carried out according to the following procedure: The colour is extracted into an ammoniacal alcoholic solution from fish sausage, and the optical density of the extract was measured with a Beckman electrophotometer.

Then the rate of discolouration (D) is calculated as follows:

$$D(\%) = 100(E_0 - E_t)/E_0$$

Where E_0 represents the optical density of the colour solution prepared by extracting a freshly manufactured fish sausage, and E_t that of the colour solution from a fish sausage stored for t days.

The condition of extracting food colour from the sausage and the experimental error in optical density of this method were examined. The result indicates that food colour in quantitatively extracted from a fish sausages within an error smaller than 6 %, although different individuals of identical products do not always lead to an identical result.

Employing this method, discolouration of the food colour as added to 11 kinds of fish sausage products was followed up. Said 11 kinds of fish sausages were as follows: The sausages made from the white flesh of fish and the reddish flesh, some being added and the others not added with phosphates, and the fish sausages mixed with drained bean-curd up to 20 and 40 %, respectively. The relation between the discolouration and the putrefaction was also observed. The results may be outlined as follows:

1) The food colour "*new coccin*" which was added to fish sausages gradualy discolours with the lapse of time after the completion of manufacture. In the case of fish sausage products which are at the threshold of putrefaction, the degree of discolouration is about 20 %. Afterwards, however, the discolouration in suddenly accelerated with the advance of putrefaction. This result suggests that discolouration of fish sausage products can be attributed chiefly to the propagation of bacteria.

2) Addition of nitrite accelerates the discolouration of new coccin. Contrary to the general conception that fish sausages made from reddish flesh are more liable to be discoloured in comparison with those made from white flesh, the present experimental result indicates

* 本研究は昭和34年4月1日，日本水産学会大会において発表した。
** 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Laboratory)
*** 上野製薬株式会社 (Ueno Pharmaceutical Co., Ltd.)

that if the customary nitrite treatment is omitted, the degree of discolouration will remain distinctly less in sausages made from reddish flesh than in those from white flesh. This suggests that, in the case of sausages made from reddish flesh of fish, the nitrite, be effective in stabilizing the myoglobin as it may, undesirably accelerates the discolouration of the food colour added to these products.

緒　　言

魚肉ソーセージは安価で保存性があり，栄養価値が高いので大衆食品として非常に好適な食品である。したがつて食品市場に現われてから数年の間に年産額 100 億円以上に達する食品工業に発達した。

この食品の出現は，適当なケーシングと防腐剤の発達に負うところが大きい。特に最近つぎつぎと良好なケーシング材が出現し，魚肉ソーセージの保存性は増大される傾向にある。ケーシング材料が，耐熱性，通気性，ピンホール等の諸点でさらに改良が加えられるならば，恐らく魚肉ソーセージは缶詰同様，長期保存食品となるであろう。

魚肉ソーセージは普通赤身の魚肉を主体として作られ，それに赤色着色料が添加される。保存期間の延長に伴ない腐敗とは別に褪色，変色の問題が研究の対象となつて来る。魚肉ソーセージの褪色に関する研究は少ないが，製品の褪色に関して可成りの関心が寄せられ，製品の褪色防止は相当重要な問題となつている。筆者等は酵母，大豆粕の食品への応用の目的で魚肉ソーセージに乾燥酵母，大豆蛋白等を添加する実験を行ない，あるいはまた燐酸塩添加実験を行なうかたわら，それらの褪色を観察したところ，添加物の相違によつて褪色の様相が異なることを知り，かつ 1 ケ月間保存した魚肉ソーセージでは可成り褪色することを知つたので，その褪色を詳しく調べることとした。

魚肉ソーセージの褪色には，原料魚赤身肉の褪色と添加色素の褪色との別がある。赤身肉の色素，ミオグロビンの変色，褪色については獣肉ハム，ソーセージを中心として色々の研究報告がある[1]。魚肉ソーセージは赤身の魚肉を主材料として作られるとはいえ，製造時の加熱温度が獣肉ハム，ソーセージより高く，したがつてミオグロビンの褐変は獣肉類より著るしく，製品の色調は添加色素に俟つところが多い。また足補強の意味から白身の魚肉を使用すること，および資源的かつ経済的な面から白身の魚肉を使用したり，また豆腐等を添加することもあるので，製品の色調は人工着色料に負うところが益々大となる。
そこで筆者等は魚肉ソーセージの褪色としてまず魚肉ソーセージに添加された人工着色料の褪色について調べることとし，一般に市販品に最もよく使用される人工着色料，食用赤色色素 102 号（ニューコクシン）の褪色について調べることとした。

実験および考察

I. 魚肉ソーセージの褪色測定法について

褪色程度の記帳法および測定法には官能試験法，反射光の分光分析的測定法，抽出色素の吸光度測定法，天然色撮影による比較等，色々の方法が考えられるが筆者等は色素抽出液の吸光度を測定する方法によった。

a) 食用赤色色素 102 号の吸収曲線

市販の赤色 102 号*（ニューコクシン）の水溶液，アンモニヤアルカリ溶液，70% アルコール溶液の各波長における光の吸収をベックマン分光光度計で測定して吸収の極大を調べた結果は Fig. 1 a～1 b の通りである。水溶液では 505 mμ 附近に，70% アルコール溶液では 510 mμ 附近に吸収の極大がある。

b) 魚肉ソーセージより色素の抽出

食品から酸性色素を抽出するには常法としてアンモニヤ性アルカリ液で水浴上で加温抽出する方法が考えられる。しかし食用赤色 102 号の水溶液は加熱に弱く，特にアンモニヤ溶液においては非常に弱い。例え

* 食用色素として国家検定合格の品（純度 80% 以上の実用品）

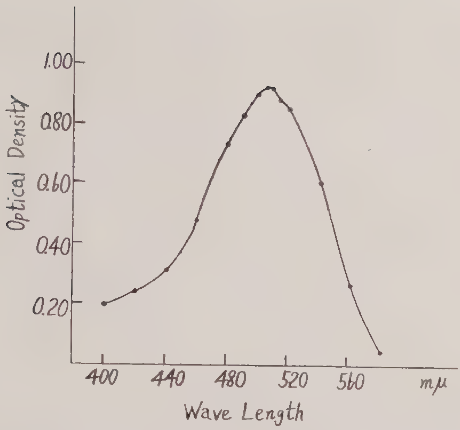


Fig. 1a. Absorption curve of a food colour, new coccin, solution.

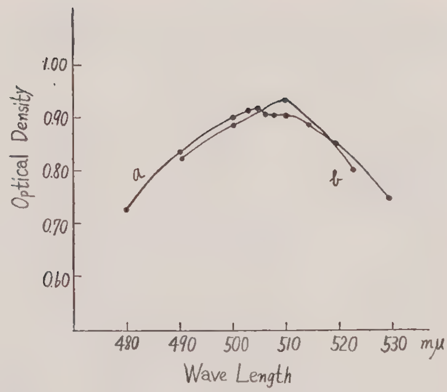


Fig. 1b. Absorption curves of new coccin solutions. a): water solution, b): 70% alcohol solution.

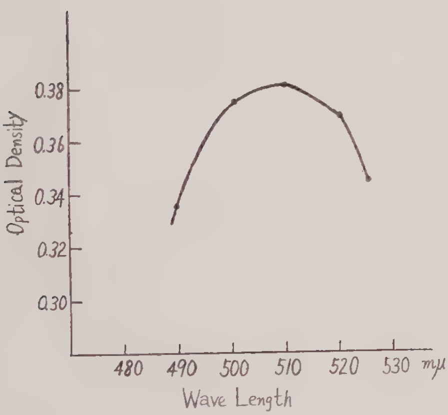


Fig. 1c. Absorption curve of a new coccin solution obtained by extracting fish sausage.

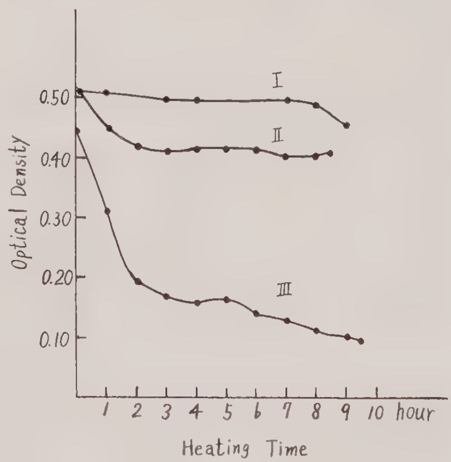


Fig. 2. Discolouration of 0.002% new coccin solutions heated on a water bath. Solvent: Ⅰ, 1% CH_3COOH; Ⅱ, H_2O; Ⅲ, 0.2% NH_4OH.

ば水溶液の加熱による褪色は Fig. 2 の通りである。したがつてソーセージから色素を定量的に抽出するには加熱を避けなければならない。また水で抽出すると可成りの蛋白質等が溶出して，これらが色素の吸光度の測定を妨害するので筆者等はつぎの方法を用いた。

魚肉ソーセージを細切してその 20g をとり，水 20cc，無水アルコール 40cc，強アンモニヤ水 3cc を加えホモゲナイザーで均一にした物を三角コルベンに移し，密栓して時々攪拌しながら一定時間暗所に放置し，遠心分離して得た上澄を東洋沪紙 No. 5c で沪過し，その液をベックマン分光光度計を用いて 510 mμ の波長における吸収を測定する。

実際に魚肉ソーセージに添加された赤色 102 号の色素を本法によつて抽出した抽出液の各波長における光線の吸収は Fig. 1c の通りであつて吸収の極大は 510 mμ 附近にある。

c) 本測定法の吟味

本測定法は必ずしも充分な方法とはいえないが条件を一定にして測定すると，まず実用範囲で使用できる。魚肉ソーセージは古くなると水溶性の蛋白質が多くなり，あるいは白濁を生ずるため測定に可成りの誤差ができる。しかし，この濁りはアルコールを使用することによつてある程度除去できる。また遠心分離後

Table 1. Optical densities of dye extracts prepared from identical fish sausage products.

Filter paper / Sample No.	Product I No. 5a	Product I No. 5c	Product II No. 5c
1	0.560	0.547	0.486 (0.480)
2	0.542	0.521	0.490 (0.434)
3	0.530	0.521	0.427 (0.427)
4	0.493	0.483	0.460 (0.464)
5	0.540	0.520	0.427 (0.459)

The values in colum of Product I show the variation with the kind of filter paper and those of Product II show the variation according to different individual pieces of identical products.

Table 2. Standard deviation in optical density for the extracts prepared from identical fish sausage products.

	Product I*	Product II
Sum of samples	8	10
Average (*Av.*)	0.5243	0.4454
Standard deviation (σ)	0.02406	0.02592
$\sigma/Av.\times 100\%$	4.58%	5.59%

の沪過は目の細かい沪紙を使用するほどよい。この沪過に用いる沪紙は実験中終始一定のものを使用しなければならない。

色素抽出液の沪過に当つて東洋沪紙の No. 5 a と No. 5 c を用いた場合の吸光度の差は Table 1 の Product I の欄の通りであつて No. 5 c を用いた方が吸光度は低くでる。これは No. 5 c の方が No. 5 a に比較して沪過が完全なため蛋白質等による所の濁りが除去されるからだと考えられる。

つぎにこの測定法を用いて，同一条件下で同時に作つた同一材料からの魚肉ソーセージについての各個体間色素濃度差を，2種の異なる系列の製品について試験した結果は Table 1, Table 2 の通りである。この結果から魚肉ソーセージでは同一系列の製品内でも可成りの個体差があるように考えられる。また同じ1本の魚肉ソーセージを2分して色素抽出液を別々に2つ調製して吸光度を調べた結果は Table 1 の Product II の欄の通りである。

表中の括弧内の値とその左側の値は同一検体から調製した異なる検液の吸光度である。同一個体にもその部位によつて色に濃淡はあるであろうが，この両者の差はむしろ検液調製時の誤差と考えられる。これら両者間の値のバラツキは，各個体間の値のバラツキより小さい。

しかし Table 2 から明らかなように $\sigma/Av.\times 100$ の値，すなわち標準偏差の平均値に対する百分率が6%以下である。それ故本法による抽出色素液の吸光度測定方法は一応実用範囲で使用可能と認めた。

d) 褪 色 率

上記 c) の方法で魚肉ソーセージから色素を抽出して抽出液の吸光度を測定するのであるが製造直後の魚肉ソーセージから調製した液の吸光度を E_0, t 日間保存した魚肉ソーセージから調製した液のそれを E_t とし，褪色率 $D(\%)$ をつぎのように計算する。

$$D(\%) = 100(E_0 - E_t)/E_0$$

II. 魚肉ソーセージの褪色について

色々の種類の魚肉ソーセージを作りそれらの褪色を実験 I で述べた方法を用いて比較検討した。すなわち白身肉（サメ）を主体とした場合 (i), と赤身肉（マグロ）を主体とした場合 (ii), (i) に水切りした豆腐を 20, 40% 添加した場合 (iii) についてその褪色を観察し，(i), (ii) ではこれらの褪色に燐酸塩添加が影響するかどうか，さらに (i), (ii) では亜硝酸塩添加が褪色に関係あるかどうか，さらに (i), (ii), (iii) を比較して白身肉と赤身肉および肉蛋白質と植物蛋白質による褪色の比較を，それぞれ 30°C, 35°C, 室温 (12～23°C) に放置した場合について検索した。また褪色と腐敗との関係を見るために各ソーセージの pH，揮発性有機酸，一般細菌数，通性嫌気性細菌数を調べた。

a) 魚肉ソーセージの組成

豚 脂	1.0 kg	澱 粉	1.5 kg
豚 皮 脂	0.5	水（水の代りに）	2.0
魚肉（サメまたはマグロ）	5.0	合計	10.0 kg

以上の組成のものを主体としてこれに赤色 102 号の 5.5% 水溶液を 0.12〜0.20% 添加して本実験の基礎材料となし，これに色々の添加物を加えた。また食塩は製品濃度 2.3% となるように計算して加えた。本実験中白身肉と記載あるものでは上記組成中の魚肉はサメ肉，また赤身肉と記載あるものではマグロ 50%，サメ 30%，バチ 20% の魚肉混合物である。

また亜硝酸塩を含まず (NO_2-) と記載あるもの以外は凡て亜硝酸塩が添加されており，製造直後の亜硝酸量は定量の結果 NO_2 として 100〜80 p.p.m. 含有されていた。

燐酸塩類としてはピロ燐酸ソーダとトリポリ燐酸ソーダの 6：4 の混合比の塩を上記基礎材料に対して 0.2%添加した。

豆腐添加ソーセージは脱脂大豆粕から常法によつて作つた豆腐を遠心分離機で水切りをして約 1/2〜1/3 量とした豆腐を基礎材料に対して 20%,40% 添加して魚肉ソーセージとした。

Table 6〜8 の防腐剤（殺菌料）無添加のものおよび特別の記載あるものを除いてすべてネオフラスキンを 1/50000 添加した。

ケーシングにはクレハロンを使用し，製造時の加熱条件としては 85°C の熱水中で 40 分間加熱を行なつた。また製造はすべて徳島ハム株式会社の研究室に依頼した。

b）試験法および測定法

i）褪色程度の測定法；実験 I の **c**）で述べた方法によつて魚肉ソーセージから色素を抽出し，抽出液の吸光度を測定して **d**）の褪色率によつて褪色の程度を知る。

ii）一般細菌数の測定法；厚生省編纂食品衛生検査指針[2]によつて行なつた。

iii）通性嫌気性菌の測定法；Cysteine 寒天培養法 (Frei & Hall 法)[3]によつた。

iv）揮発性有機酸の測定法；A.O.A.C. 法[4]に準じて水蒸気蒸溜を行ない，ソーセージ 20g の消費した N/10 NaOH の cc 数で表示した。

v）pH の測定法；検体 20g を水 60g とともにホモゲナイザーにか

Tabl 3. Discolouration of fish sausage during storage at room temperature (12〜23°C).

Kind of flesh and additives		34	42	57
White flesh of fish	1 (NO_2-) (P+)	16.6(%)	16.6(%)	11.2(%)
	2 (NO_2-) (P−)	14.5	5.4	9.1
	3 (NO_2+) (P+)	14.9	16.4	31.4
	4 (NO_2+) (P−)	12.5	6.2	28.2
Reddish flesh of fish	5 (NO_2+) (P+)	10.0	11.4	12.2
	6 (NO_2-) (P+)	3.2	4.8	5.0

(Column heading: Day)

The percentage numbers in the table show the rate of discolouration (*D*).
D is calculated by an equation: $D(\%)=100(E_0-E_t)/E_0$
E_0: optical density of a dye extract obtained from a freshly prepared fish sausage,
E_t: optical density of a dye extract obtained from a fish sausage after storage.
(NO_2+), with addition of nitrite (100〜80 p.p.m.); (NO_2-), without nitrite; (P+), phosphate (0.2%); (P−), without phosphate.

Table 4. Bacteria numbers in fish sausage observed during storage at room temperature (12〜23°C).

Composition of sample		0	34	42	57
White flesh of fish	1 (NO_2-) (P+)	<10 (<10)	1.1×10^3 ($<1\times10^2$)	1.6×60^5 (1.2×10^5)	1.8×10^5 (1.1×10^5)
	2 (NO_2-) (P−)	<10 (<10)	6×10^2 ($<1\times10^2$)	2×10^3 (3×10^2)	4×10^8 (1.5×10^7)
	3 (NO_2+) (P+)	10 (<10)	1.8×10^4 (8.3×10^3)	2×10^4 (1×10^3)	1.5×10^5 (2.1×10^4)
	4 (NO_2+) (P−)	2×10 (10)	2.1×10^5 (5.5×10^4)	2×10^5 (1.1×10^5)	7.1×10^5 (3.6×10^5)
Reddish flesh of fish	5 (NO_2+) (P+)	<10 (<10)	1×10^4 ($<1\times10^2$)	1×10^4 (3×10^3)	1.4×10^5 (1.2×10^4)
	6 (NO_2-) (P+)	10 (<10)	3×10^3 ($<1\times10^2$)	4×10^3 (1.6×10^3)	1.5×10^5 (2.5×10^4)

(Column heading: Day)

Numbers in round brackets are such of facultative anaerobic bacteria.
Details in the explanation of compare also Table 3.

けて遠心分離を行なつて後，ガラス電極 pH メーターによつて測定する。

vi) 亜硝酸根の定量法; 厚生省編纂の食品衛生検査指針[5] による。

c) 実 験 結 果

白身魚肉と赤身魚肉を主体として魚肉ソーセージの褪色を調べ，さらに亜硝酸塩が褪色にどのように作用するか，また燐酸塩が褪色防止に効果があるかどうかを試験した。検体を室温 (12～23°C) に約 60 日間保存した時の褪色結果を Table 3 に，Table 3の試験に使用したのと同じ製品を 30°C ± 1.5°C に保存して

Table 5. Discolouration of fish sausage during storage at 30°C±1.5°C.

Kind of flesh and additives \ Day		6	12	15	20	26	33
White flesh of fish	1 (NO_2−) (P+)	1.8(%)	13.0(%)	11.1(%)	9.3(%)	14.8(%)	18.6(%)
	2 (NO_2−) (P−)	3.6	7.3	11.8	14.5	12.8	19.1
	3 (NO_2+) (P+)	6.3	14.0	15.6	19.0	19.4	20.9
	4 (NO_2+) (P−)	9.4	15.6	15.6	16.8	20.4	23.5
Reddish flesh of fish	5 (NO_2+) (P+)	8.6	17.1	15.7	17.1	18.6	34.3
	6 (NO_2−) (P+)	0	7.9	12.7	9.5	9.6	33.0

See also Table 3.

Table 6. Discolouration of fish sausage during storage at 35°C±1.5°C.

Kind of flesh and additives \ Day			6	12	15	20	24
White flesh of fish		1 Without-antiseptic	48.1(%)	76.0(%)	—	—	—
		2 Neo Fraskin 1/50000	5.3	21.0	19.3(%)	19.3(%)	22.9(%)
		3 Soluble Neo Fraskin 1/50000	10.9	14.5	23.6	14.5	19.1
White flesh of fish	"Tōfu" 20%	4 Neo Fraskin 1/50000	0	7.7	11.5	9.6	9.6
	"Tōfu" 40%	5 Neo Fraskin 1/50000	2.1	6.1	14.3	—	14.3

"Tōfu", bean-curd, is centrifuged and the separated supernatant is thrown away. The bean-curd thus drained is used as a supplemental material of fish sausage.

Table 7. Volatile organic acids and pH values of fish sausages during storage at 35°C.

Composition of sample \ Day			0	6	12	15	20	24
White flesh of fish		1 Without-antiseptic	2.3cc (6.61)	6.0cc (7.71)	10.1cc (6.90)	putrefied	—	—
		2 Neo-Fraskin 1/50000	2.3 (6.50)	2.7 (6.41)	2.9 (6.70)	2.9cc (6.55)	3.0cc (7.00)	3.0cc (6.70)
		3 Soluble Neo-Fraskin 1/50000	2.3 (6.50)	2.7 (6.41)	2.9 (6.67)	2.9 (6.59)	3.0 (6.60)	3.0 (6.41)
White flesh of fish	"Tōfu" 20%	4 Neo-Fraskin	2.4 (6.10)	2.7 (6.20)	3.0 (6.09)	3.1 (6.11)	2.6 (6.25)	2.5 (6.00)
	"Tōfu" 40%	5 Neo-Fraskin 1/50000	2.4 (6.10)	2.6 (6.20)	3.5 (5.70)	3.6 (6.01)	3.5 (6.10)	3.3 (6.29)

See also Table 6.

Table 8. Bacteria numbers in fish sausage observed during storage at 35°C.

Kind of flesh and additives \ Day			1	6	12	15	20	24
White flesh of fish		1 Without-antiseptic	10 (<10)	1.9×19⁷ (9.0×10⁶)	7.8×10⁷ (11×10⁷)	—	—	—
		2 Neo-Fraskin 1/50000	10 (<10)	8×10 (<10)	1×10⁷ (4.3×10⁷)	4.6×10⁵	9×10⁵	<1×10⁵
		3 Soluble Neo-Fraskin 1/50000	<10 (<10)	1×10² (<10)	3×10³ (<1×10²)	3.4×10⁶	4.5×10⁵	<1×10⁵
White flesh of fish	"Tōfu" 20%	4 Neo-Fraskin 1/50000	<10 (<10)	5.3×10³ (<10)	2×10³ (<1×10²)	3.5×10⁶	2.2×10⁷	1.2×10⁷
	"Tōfu" 40%	5 Neo-Fraskin 1/50000	10 (<10)	1×10² (<10)	2.7×10⁵ (3.1×10⁵)	8×10⁵	5×10⁵	<1×10⁵

See also Table 6.

その褪色を調べた結果を Table 5 に示す。製品が腐敗すれば褪色が起ると考えられるので，室温保存のものについて腐敗状況を知るために一般細菌数と通性嫌気性菌の数とを調べた。その結果を Table 4 に示す。

また白身魚肉を主体として魚肉ソーセージについて防腐剤無添加のものとネオフラスキンおよび可溶性ネオフラスキンを添加したもの，さらに豆腐を添加したものを 35°C に保存してその褪色と腐敗を試験した。その褪色率の変化を Table 6 に，褪色実験と同時に行なつた腐敗実験の結果として一般菌数，通性嫌気性菌数を Table 8 に，pH，揮発性酸の変化を Table 7 に示す。

d）実験結果と考察

Table 3 の結果を見ると，白身肉に亜硝酸塩添加のもの（3, 4）と無添加のもの（1, 2）とでは 57 日目で明らかに無添加のものの方が褪色が遅い。

また赤身肉では保存期間 34, 42, 57 日のいずれにおいても亜硝酸塩無添加のものの方が褪色が遅い。未発表ではあるが *Torula dried yeast* を添加した魚肉ソーセージの褪色実験においても同様の結果を得ている。したがつて亜硝酸塩は褪色を促進するように考えられる。

つぎに白身肉と赤身肉の比較において Table 3 の（1）と（6），（3）と（5）を対比すれば明らかな様に白身肉の方が褪色が速い事が判る。また（1）～（6）を見ると，白身肉に亜硝酸塩を添加したもの，すなわち（3），（5）が最も褪色が速い。さらに燐酸塩添加の有無と褪色の関係をみると白身肉では亜硝酸塩添加のものおよび無添加のものの両者とも燐酸塩を添加したものの方が褪色がやや速い。

Table 4 の結果は Table 3 の褪色測定に使用した検体の細菌数を示す。この結果から実験の初めには非常に細菌が少なく検体 1g あたり 10～100 個位であることが判る。また細菌の繁殖は室温保存の場合は一般細菌，通性嫌気性細菌とも非常に徐々であつて 57 日後においても (2) を除いては凡て 10^6 以下であつた。

57 日間保存したものについて官能検査を行なつたところ，匂，味，外観等にほとんど変化はみられなかつた。したがつて未だ腐敗に達してはいなかつたと考えられる。

Table 5 の結果は Table 3, 4 の試験に使用した魚肉ソーセージと同一の製品を 30°C に保存した場合の褪色を調べたものであつて，この結果からつぎのことがいえる。即ち白身肉では（1）と（3），（2）と（4）を，赤身肉では（5）と（6）を比較すれば，いずれも亜硝酸塩添加のものは無添加のものに比較して褪色が速い。未発表ではあるが同時に行なつた *Torula dried yeast* を添加した魚肉ソーセージにおいても同様のことがいえる。Table 5 の結果は data としてかなりのバラツキがあつて赤身肉と白身肉の相違および燐酸塩添加の有無による褪色速度の差は比較することができない。30°C 保存のものでは腐敗実験を行つていないが官能的検査によると 33 日間の保存では室温で 57 日間保存したもの（Table 3 の実験）よりもかなり腐敗が進行していたと考えられる。後で述べられるように腐敗によつて当然褪色が促進されると考

えられるので，Table 5 の値はかなり腐敗による影響が現われていると考えられる。

例えば Table 5 の 26 日までの data は Table 3 の値に近く白身肉と赤身肉の比較においても白身肉の方がやや褪色が速い傾向が見られる。Table 5 では（3），（4）を除いては，26 日と比較して 33 日目で急速に腐敗が進行し，腐敗による褪色が起つたものと考えられる。

つぎに Table 6~8 から明らかなように防腐剤無添加のものは 35°C に保存すれば腐敗が速く 12 日で完全に腐敗を起し褪色率も 76% となる。次にネオフラスキンと可溶性ネフラスキン（超微粒子としてあるため水に溶けやすい）を添加してその腐敗と褪色を調べた。Table 7 の pH の値は（3）の方が（2）より変化が少なく，また Table 8 の菌数を見ると一般菌数に差は見られないが 12 日目の通性嫌気性菌は（3）の方がはるかに少なく，従つて可溶性ネフラスキンは普通のネオフラスキンより防腐効果がすぐれていると考えられる。

Table 6 における（2）と（3）の褪色を比較すると（3）の方が褪色が遅い。従つてこのことから褪色には細菌の繁殖が関係していることが判る。

つぎに白身肉に豆腐を添加したもの（4），（5）と白身肉のみのもの（2），（3）を比較して見ると明らかに豆腐添加のものの方が褪色が少ない。しかし豆腐 20% と 40% とのものでは 40% の方がかえつて褪色が速いようである。これは Table 7, 8 の結果から考えると，（5）の方が（4）の方より腐敗が速かつたためではないかと考えられる。

一般に人工着色料の褪色は保存食品において問題となるのであつて，腐敗とは別の問題として考えられる場合が多い。ところが魚肉ソーセージのように割合速く腐敗する食品においては褪色と腐敗（または菌の増殖）とは切り離して考えられない。

魚肉の鮮度測定の一つとしてメチレンブルーの褪色度[6]を測定する方法がある。細菌の繁殖によつて還元力が増大されるので還元力を測定することによつて鮮度を測定する方法が他にも色々ある[7]。従つて魚肉ソーセージ内に細菌が繁殖すれば，還元力が増大して，メチレンブルーが褪色されるのと恐らく同じように赤色 102 号（*New Coccin*）も褪色されるのではないかと考えられる。Table 6~8 の結果として防腐剤無添加のものは腐敗が著しく速く，褪色も著しく速いことからもこのことが判る。したがつて純然たる褪色を考える時は細菌の繁殖しない場合，すなわち長期保存食品について考えなければならない。しかし実際問題として魚肉ソーセージは完全な保存食品ではなく，大体約 30 日間位の保存ができるにすぎない。Table 4, 8 において保存期間中の細菌数を見ればわかるように凡ての魚肉ソーセージに細菌が見出され，しかも保存日数の増加とともに徐々に細菌数が増大している。魚肉ソーセージのケーシングは割合に通気性が少なく，相当嫌気的な状態に置かれており，防腐剤の添加によつて細菌を抑えているので細菌の繁殖は非常に徐々である。しかし Table 4 から判るように（12~23°C）の室温において 57 日間で細菌数は約 10^6 位となり初期腐敗の寸前となる。

したがつてこの場合の褪色においても細菌による褪色がかなり大きな一因となつていると考えられる。30°C, 35°C 保存の場合には室温の場合より腐敗が速く約 25~33 日で初期腐敗に達すると考えられる。Table 4, 6 における本実験の結果もそのようになつているので，Table 4, 6 の褪色におけるその要因は Table 3 における褪色よりも細菌の増殖に帰因するところがさらに大きいと考えられる。

先に述べたように本実験を通して亜硝酸塩は褪色を促進することが明らかとなつた。一般に赤身肉は褪色が速く，白身肉は褪色が遅いといわれている。赤身肉では肉色素のミオグロビンを固定するために亜硝酸塩を使用する。したがつて赤身肉ではミオグロビンの固定に使用した亜硝酸塩が添加色素の褪色を促進するので褪色が速いように考えられていたのであつて，赤身肉自身が白身肉に比較してそんなに褪色を速めるものではない。本実験の Table 3 において亜硝酸塩無添加の赤身肉と白身肉では白身肉の方が褪色が速い。しかしながら本実験結果から直ちに白身肉は赤身肉より褪色が速いとはいえない。本実験の白身肉にはサメを使用したが，一般にサメ肉は NH_3 含有量が多く pH が高い。Fig. 2 から判るように赤色 102 号の水溶液は特に NH_3 溶液に弱いことから考えて，この場合は恐らくサメ肉の NH_3 が褪色を速めているように思わ

れる。したがつてこの実験 data からは赤身肉と白身肉の褪色におよぼす影響について比較することはできない。しかし他の実験においてサメ肉を含まない白身肉（カマボコ摺身）で実験した結果，白身肉では非常に褪色が遅いことを認めている。

また燐酸塩はニューコクシンの褪色防止に効果がなく，むしろ燐酸塩添加のものの方がやや褪色が速いという結果が得られた。赤色102号の水溶液の加熱による褪色を試験したところ，燐酸塩は著しく赤色102号の褪色を促進することを確めたので（未発表）燐酸塩の添加は赤色102号の褪色を促進すると考えられる。

豆腐を添加したものは褪色が遅い。これは Table 7 から明らかなように豆腐を添加すれば pH が低下する。また豆腐は多くの場合，古くなると有機酸を形成[8]するため pH が低下する。この pH の低下が褪色を遅くするのではないかと考えられる。Fig. 2 の水溶液の実験から判るように酢酸を加えると赤色 102 号の褪色はほとんど起らない。

亜硝酸塩が著しく色褪を促進するのはいかなる作用によるのか，また燐酸塩が褪色を促進せしめるのは pH が高くなるためなのかあるいは燐酸イオンによるのか，アンモニヤが褪色を速めるのもアンモニヤイオンによるのか，pH が高くなるためなのか答は今後の研究に俟たねばならない。

要　　約

魚肉ソーセージに添加された人工着色料赤色 102 号 (*New Coccin*) の褪色について調べた。褪色の測定法としては色素抽出液を作りその液の吸光度(E)を測定して褪色率(D)を $D=100\,(E_0-E_t)/E_0$ の式から計算した。この方法を吟味したところ個体誤差を加算しても測定値の標準偏差は平均値の 6% 以下であつた。

本法を用いて白身肉，赤身肉を主体とした魚肉ソーセージ，亜硝酸塩，燐酸塩をそれぞれ添加したものと添加しないもの，さらに豆腐を添加したもの等，**11** 種の魚肉ソーセージについてその褪色と腐敗を試験した。

i） 魚肉ソーセージに添加した赤色 102 号は製造後刻々と褪色をする。初期腐敗前のものの褪色率は 20% 前後であり，腐敗によつて急速に褪色が進行する。また初期腐敗前のものの褪色も細菌の繁殖に負うところが大きい。したがつて褪色は細菌繁殖の指標として役立つ一面がある。

ii） 亜硝酸塩は褪色を著るしく速める。赤身肉は褪色が速いといわれているが，これはミオグロビンの固定に使用した亜硝酸塩のためであつて亜硝酸塩無添加の赤身肉は白身肉（サメ）より褪色がかえつて遅い。

iii） 豆腐の添加は褪色を遅延させる。

iv） 燐酸塩類は赤色 102 号の褪色防止に効果がなく，むしろやや褪色を促進させる。

付　　記

絶えず御鞭撻指導を賜わつた大阪市立衛生研究所の茶珍俊夫博士，久保正徳博士，田中薫樹博士の諸先生方に厚く感謝申し上げる。また色素水溶液の加熱による褪色実験の一部を御願いした当衛生研究所の新津陽造氏，並びに魚肉ソーセージの製造を引き受けて下さつた徳島ハム株式会社の岩田弘氏に厚く御礼申し上げる。なお研究費の一部援助をうけた上野製薬株式会社に感謝申し上げる。

文　　献

1) 岩田　弘・小田秀人： 肉製品の変色について(総説)，生活衛生，**2**，No. 5，p. 2〜13.
2) 厚 生 省： 衛生検査指針 Ⅲ，p. 8 (1950).
3) 谷川英一： 水産細菌学 (生活社)，p. 97 (1947).
4) *Official Method of Analgsis of A. O. A. C.*，p. 313 (1955).
5) 厚 生 省： 衛生検査指針 Ⅲ，p. 337〜339 (1951)，Ⅲ p. 29〜31 (1952).
6) J. TILLMANS, U. OTTO： *Ztsch. f. Lebensm.*，**47**，S. 25 (1924).
7) 森高次郎・秦　満夫： 本誌，**15**，8，407〜411 (1949).
8) 大園栄一郎・清田亮夫・根岸　奨・川口一弘： 大阪市立衛生研究所研究報告，19 集，p. 128 (1957).

抄　　録

英国におけるニシン流し網漁業の近年の不振について　D.H. CUSHING: *World Fishing*, 5 (9) 67～69 (1959).　最近の英国東部のニシン流し網は不振である。この原因について英国をはじめ，北海に面する数ケ国で科学的調査が行われた。1925 年以来のニシン流し網の平均漁獲高を 10, 11 月とに分けて調べてみると，11 月の漁獲高のカーブは1950年以後下降しているが，10 月のカーブは年々の変動はあるが，'55 年までは減少を示していない。(それ以後は 11 月と同様急激に下降する) 10 月の魚群は産卵のためイギリス海峡を通る 3～5 才の若年群で，11 月は老年群である。したがつて，11 月に漁獲が少いのは老年群のストックの減少によるものとみなされる。その原因として 1) '50 年以来，デンマーク西海岸におけるトロールによる幼，若年魚の漁獲の増加，2) '51 年以来，英国東部における老年魚の漁獲の増加，3) 老年魚の分布や生残率に影響する自然的原因が挙げられた。これらについて調べるため，標識放流試験が行われた結果，英国東部のトロールでは '57 年には 13%，'58 年には 15% ストックから間引いていることがわかつたが，この数字は老年魚のストックの減少がトロールによるものと考えるには小さすぎるとされた。また，英国東部における漁獲高からストックの減少率（漁獲＋自然死亡率）を推定し，漁獲努力との関係を調べ '56 年まではトロールが増加し，ストック減少率は漁獲努力に割合一致することを知つた。したがつて，11 月の流し網の主体をなす老年魚の減少はトロールの影響による説も考えられた。しかし，両者の一致度は厳密には差があり，この差は '56 年以後大きくなり，'57, '58 年にはストック減少率が漁獲努力を下廻つた。これから自然死亡率を高め，老年魚の分布や生態を変える自然的原因が消滅したという説も生じた。(井上)

Chinook salmon の脊椎骨数と鰭条数におよぼす水温の影響　ALLYN SEYMOUR: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 88 (1) 58～69 (1959).　発育初期の水温が，Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytsch* の脊椎骨数や鰭条数にどういう影響を与えるかを知るための実験を 3 年間継続しておこなつた。実験に用いた水温の範囲は 34°F から 74°F であつたが，39°F 以下と 62°F 以上の場合にはこれらの体節形質数を数えることのできる stage に至る以前に全部死亡した。40°F と 60°F の範囲内では群ごとの平均脊椎骨数はU字形となり，中間温度で低く，両端ほど高かつた。異常な脊椎骨をもつた個体の発生率も同様の傾向を示した。脊鰭条数と臀鰭条数は脊椎骨数の場合とは逆に中間温度の時ほど高かつた。これらの結果は，SCHMIPT (1921), TÅNING (1952) のそれと一致している。また，異なつた四つの race からの群の間の平均脊椎骨数の差は，水温に変化を与えた場合にも明瞭であつた。このことから，Chinook salmon では脊椎骨数の後天的な変異は遺伝的なものにくらべて小さいと思われた。なお，実験中一部の水槽にある期間内だけ溶存酸素量の低いものがあつたが，これらの水槽からの発生群は脊椎骨数の増加を示した。酸素量の少なかつた時期からみて，この魚の脊椎骨数の決まる時期は卵発生が始まつてから 21 日目以前であると判断された。

(能勢)

***Flavobacterim piscicida* Bein の研究 1. 発育，毒性および生態学的考察**　S.P. MEYERS, M.H. BASLOW, S.G. BEIN and C.E. MARKS: *G. Bact*, 78 (2), 225～230 (1959).　*Flavobacterium* 26 種のうち 13 種は海のもので，そのうち 1 種 *F. Piscicida* BEIN (1954) が魚に有毒である。本菌は 1951 年，Bein によつて赤潮の発生により多くの魚が死んだ Florida の White-water Bay で分離された。本菌は海水寒天と 1% peptone broth (carbohydrate の入つていない) でよく成育し，0.2～1.0% peptone broth で黄～濃橙色の色素を産生する。Urea を除いて，tryptone, proteose peptone, beef extract および polypeptone の 0.1%海水でよく繁殖する，特に proteose peptone と polypeptone では典型的な色素の産生がみられる。30～100% の自然海水 (1% peptone broth 入り) で 24 時間の培養は同じ程度に成育し 40～200%で黄あるいは黄橙色の色素が産生される。20～35°C で発育し，適温は約 30°C で 20°C 以下では発育がわるくまた色素の産生が行なわれない。pH 6.2～8.7 で発育するが至適 pH は少しアルカリ側である。培地の Ca^{++} が多いと成長と色素産生は盛んである。Poeciliid top minnow (*Gambusia* sp) に対する毒性試験：厚いオレンジ色の菌膜を Waring Blendor にかけた後 No. 015 および No. 03 Selas filter で沪過して得られたものと沪過しない液が試験された。作用濃度は 20%の毒液を 100%海水と溜水で稀釈して 10%から 50%に作られた (全量 50 cc)。試験魚の致死時間は 10%で 25～26分，20%で 8～9 分，40%で 5 分，50%で 4 分で，作用中魚は平衡失調，けいれん，活動不能等の症状を示すが，毒液で汚染されていない汽水に移すと魚は 10～30 分で回復する。毒素は小分子および揮発性物質らしい。本菌の毒性が赤潮地帯の 'Bloom' と存在することは本菌の著明な生態的特徴として認められることである。

(佐野)

Pressure Packaged Food の微生物学的検討 －II 種々の加圧ガスの効果　G.L. HAYS, J.D. BURROUGHS and R.C. WARMER: *Food Technology* 13 (10), 567～570 (1959).　滅菌培地を缶に入れ，

これに種々の細菌，カビ，酵母を接種し，缶内を真空度 27 インチに減圧し（減圧しない場合も同時に行なう），つぎに種々の気体を缶内に圧入し，一定期間 90°F の定温器中に放置した後，供試菌の発育の有無を調べた。実験に供したガスは窒素，炭酸ガス，亜酸化窒素，85 亜酸化窒素/15炭酸ガス，75 亜酸化窒素/25 炭酸ガス， 50 亜酸化窒素/50 炭酸ガス， 25 亜酸化窒素/75 炭酸ガス等で，缶内圧力は 90 p.s.i.g. で行なつた。その結果，窒素ガスは供試菌のうち *A. niger* だけの発育を阻止した（空気を除かない場合は *A. niger* も発育した)。亜酸化窒素はすべての供試カビの発育を阻止したが，その他の菌の発育は阻止できなかつた。炭酸ガスは *A, aerogenes, C. botulinum,* P.A. No. 3679, *C. butyricum, S. aureus* の発育を阻止したばかりでなく，生菌数や，芽胞数を減少せしめ，また炭酸ガスは供試酵母に対しても同様な効果を示した。混合気体の場合は，混合割合によつて，また供試菌種によつて結果は一定していなかつた。(小泉)

腸内細菌群中で Proteus 属を鑑別するための培地 G. NOGRADY: *Appied Microbiol.*, 7 (5), 314～317 (1959). 乳糖非分解の病原菌から乳糖非分解の非病原菌を速やかに識別することは，腸内細菌群の鑑別上重要な問題である。特に重要なことはウレアーゼ活性のある群を分別することである。つぎに述べる方法は *Shigella, Salmonella, Proteus, E· coli* 等を同時に鑑別できる。培地：0.067M 燐酸塩緩衝液 (pH 6.45) 450 cc，寒天 15 g，ペプトン 10 g，酵母エキス 6 g，乳糖 12.5 g， デスオキシコリン酸ソーダ 2g，食塩 5g，BTB 0.125g，尿素 2.5 g，NR 0.03 g，蒸溜水を加えて 1 *l* にする。 終末 pH 6.35。このうち尿素は沪過除菌を行ない，他を加熱溶解した後に加える。高圧滅菌は行なわない。シャーレに 17 cc ずつ分注し，表面を 37°C 20 分乾燥してから用いる。*Shigella dysenteria* のコロニーは帯茶オレンジ色で周囲に広い透明帯ができ，ときには帯青色となる。*Salmonella typhosa* のコロニーは帯茶黄色で小さく， 透明帯はせまい。*Salmonella paratyphi* B は帯茶黄色で大きく，透明帯は広く，ときには帯青色である。*Proteus* は緑か深青色で広い透明帯は大部分青色である。これは尿素を分解するためである。*E. coli* は不透明な赤色コロニーで，周囲に通常赤い沈澱帯ができる。
(横関)

鮮魚の品質判定 I. 官能判定とトリメチルアミン量との関係 C.H. CASTELL, M.E. GREENOUGH, R.S. RODGERS and A.S. MACFARLANE: *J. Fish. Res. Bd. Canada.* **15** (4), 701～716 (1959). 全魚体および内臓除去したタラとハドックについて，官能判定により等級に区別した品質とフィレーのトリメチルアミン量との関係につき多数の試料で検討している。等級は（1）変色，不快臭のない良い品質のフィレーのできる鮮魚（2）フィレーとして販売できるが，変色や不快臭が僅かあり，また肉の硬さ弾力において（1）より劣るとみなされる鮮魚（3）フィレーとして不快臭や変色が明瞭で，生または凍結魚として使用できない鮮魚の3等級にわけた。鮮魚の取扱いに経験豊富な工場製造主任，会社職員，鮮魚検査員の格付とフィレーのトリメチルアミン量の相関があることが判つた。すなわち等級（1）のもののは 85～95%トリメチルアミン窒素が 0～1 mg%．等級（2）のものの 75%は 1～5 mg%，等級（3）のものの 85～95% は 5 mg% 以上であつた。一方鮮魚取扱いに経験の少ない塩蔵魚，乾燥魚取扱い者による格付とトリメチルアミン量との相関は上記の判定者よりも劣つた。(尾藤)

鮮魚の品質判定 2. 官能判定とトリメチルアミン量との関係についての統計的考察 P.L. HOOGLAND: *J. Fish. Res. Bd. Canada.* **15** (4), 717～728 (1959). 前報 (C.H. CASELL *et al. J. Fish. Res. Bd. Canada.* **15** (4), 701～716, 1959) の実験結果について，さらに統計的考察を行なつた。 TMA（トリメチルアミン）指数を log〔1+TMA (mg/100 g)〕として表わすと，官能判定値とトリメチルアミン量との関係は，等級＝1.67×TMA 指数＋0.91 のごとく表示することができる。判定者の経験の多少について検討すたところ，等級とトリメチルアミン量との相関係数の比較において，鮮魚取扱いに経験豊かな工場製造主任，鮮魚検査員によるパネルテストではそれぞれ 0.898， 0.909 の高い相関係数を示したが，会社職員の場合は 0.780 の相関であつた。経験の少ない加工業者の場合には 0.4 以下で，判定者の習熟性が相関係数に大きく影響する。したがつてトリメチルアミン量は鮮度判定の指標として使用可能であり，現在の結果からは，等級 (1) の鮮魚は TMA 量が 0.00～1.00，等級 (2) は TMA 量が 1.01～7.00，等級 (3) は TMA 量が 7.01 以上のものとして区別できる。なお商業上においては，TMA 量を測定して鮮魚の品質を判定することは実際上不可能なため普通官能判定によつて行なわれるが，判定者の習熟性を上記相関係数によつて判断することができよう。(尾藤)

鮮魚の品質判定 3. フィレーの品質判定 C.H. CASTELL and M.F. GREENOUGH: *J. Fish. Res. Bd. Canada.* **15** (4) 729～748 (1959). 100 尾の内臓除去したタラとハドックについて工場製造主任が魚体およびそのフィレーを官能的に3等級に区分し，トリメチルアミン量との関係を調べた。そのうち官能判定による等級付で魚体とフィレーで完全に一致したものが 56%，僅か相違したものが 29%であり，腐敗初期のものでは魚体による官能判定の方がすぐれ，腐敗の進行につれてフィレーについての判定が良くなる傾向があつた。またトリメチルアミン量と両者の等級とはよく一致している。品質低下魚の表面を洗滌したり，数日間日光に曝したものや "bilgy" 臭のある魚，内臓を除去しない魚等につい

ても，魚体とフィレーの官能判定結果はよく一致した。魚体とフィレーを外観により格付した場合と，フィレーを臭により格付した場合の3者の官能判定の精度をトリメチルアミン量により比較すると，腐敗の初期においては，魚体の外観，フィレーの臭，フィレーの外観の順に悪くなる。また魚艙の最下段に貯蔵された魚で "bilgy" 様の臭のある魚，内臓の除去が不完全であつた魚，肉組織がゼリー状の魚 (slinky)，夏期に獲れるタラとハドックで肉組織が軟化したもの (summer softness) はトリメチルアミン量と官能判定による等級との間の相関は悪く，トリメチルアミン量が少なくても，低い等級を示す。（尾藤）

動物組織中の 2-dimethyl aminoethanol C. D. HONEGGER and R. HONEGGER: *Nature*, **183**, 550～552 (1259). 2-dimethylaminoethanol (deanol) (I) は acetyl-choline の前駆体として最近深い関心がよせられている物質であり，著者等は (I) の動物組織中の存在を明らかにするためにその分離定量を試みた。組織を 80 % エタノール中で磨砕し濃塩酸で pH 2～3 とし遠心分離する。遊離型 (I) は上澄液に，結合型 (I) は沈澱中に残る。上澄液を減圧濃縮し，$Ba(OH)_2$ を飽和させ減圧下に分別水蒸気蒸溜する。この時の残溜と先の沈澱をあわせて飽和 $Ba(OH)_2$ 水溶液中で6時間煮沸し，この加水分解物を上記と同様に抽出して分別水蒸気蒸溜を行なう。分別水蒸気蒸溜により (I) と NH_3, methylamine を分離することができるが，他のアミンやアミノアルコールとの分離は困難で，paperchromatography や paperelectrophoresis を用いても成功しなかつた。しかし固定相に Carbowax 20M' を用いた gas chromatography (carrier gas He 96 ml/min. カラムの長さ 5 ft. 温度 125°) が有効でこの方法により分離および定量を行なつた。その定量誤差は 20 μg 以上で 1～2%，20 μg 以下で約 10%であつた。定量結果はつぎの通りである。単位 μg/kg. 鮭卵，遊離型 260，結合型 1662，人間脳，遊離型 5.1，結合型 76.4 豚脳，遊離型 173，結合型 73.5。

（岡市）

魚類の遊離アミノ酸について II. lemon sole 筋肉中の遊離アミノ酸 N. R. JOMES: *J. Sci. Food Agric.*, **10** (5), 282～285 (1959). ババガレイの一種 lemon sole (*Pleuronectes microcephalus*) の筋肉中の遊離アミノ酸組成を 1953 年4月より 1956 年 10 月まで3年間にわたり定量した。試料は Aberdeen 沖でトロールにより漁獲されたもので生きた魚の頭部を切断し前背部の筋肉を直ちに採取，磨砕し 80 % アルコールで抽出した。この抽出液をクロロホルムと振盪し，上層の水溶液を凍結乾燥して残渣を水に溶解し，二次元 paperchromatography により定量した。定量の精度は ±7 %であつた。季節的変化の著るしいものはグルタミン酸 (I)，グリシン (II)，およびタウリン (III) で前二者は9月～10 月に少なく2月～3月に多い。その量は I は 2～34（単位 mg/100g 筋肉以下同様）II は 7～184 であつた。一方 III は逆に7月～9月に多く，3月～4月に少なく，その量は 202～498 であつた。これらのアミノ酸以外のものでは季節的変化はみられず，α-アラニンは 6～80，β-アラニン，ロイシンおよびリヂンでは個体により検出されない場合もあつたが最大含量はそれぞれ 22，7.9，および 47.8 であつた。以上のアミノ酸を通じて個体により含量が非常に異なり，これが魚類の加工に際して香味や褐変の程度に差を生ずる原因と思われる。I および II の季節的変化の理由は不明であるが，III は夏期に同水域の塩分濃度が高まることと一致し，また codling にも同様な現象がみられることから滲透圧調節と関係していると考えられる。（岡市）

乳酸からのグリコーゲン生成 H.D. HOBERMAN: *J. Biol. Chem.* **233** (5), 1045～1048 (1958). DL-α-deuteriolactate を与えた鼠肝臓から，多量の重水素が結合したグリコーゲンを分離し，加水分解によつて得たグルコースについて，分子内の重水素の分布を調べた。1，2，3 および5の位置には全く重水素の存在が認められず，4の位置に最も高濃度の重水素がみられ，また6の位置にも比較的多量の重水素が観察された。6位置の重水素量は4位置のそれの1/2とみられる。合成反応はつぎのように考えられる: $CH_3CD(OH)COOH$ (+ TPN^+，乳酸脱水素酵素)→$CH_3COCOOH$ (+TPND + H^+ + CO_2，リンゴ酸酵素)→$HOOCCD(OH)CH_2COOH$ (フマラーゼ)→$HOOCCD{=}CHCOOH$ (フマラーゼ)→$HOOCCDHCH(OH)COOH$ (+DPN^+，リンゴ酸脱水酵素)→$HOOCCHDCOCOOH$ (+ITP，オキザロ醋酸カルボキシラーゼ)→$CHD{=}C(OPO_3H_2)COOH$ （永山）

海産無脊椎動物の CO_2 固定 C.S. HAMMEN and K.M. WILBUR: *J. Biol. Chem.* **234** (5), 1268～1278 (1959). CO_2 は原生動物ではコハク酸に，ウニ卵では蛋白質に，寄生線虫ではプロピオン酸，コハク酸に固定されることが知られている。本報はカキの CO_2 固定について述べている。$NaHC^{14}O_3$ を含む海水中にカキを入れておくと，C^{14} は主として殻の炭酸塩中にとり入れられ，また蛋白間質にも入つて行くことが明らかにされた。つぎに $NaHC^{14}O_3$ および Na-1-C^{14}-プロピオン酸中に入れた外套膜を分析してみると，91.8，91.1%がコハク酸に，2.1，3.3%がフマール酸に，6.1，5.9 % がリンゴ酸にそれぞれ入つて行くことが確認された。しかもその吸収速度はきわめて大きく，さらに，外套膜の遊離アミノ酸について測定してみると，アスパラギン酸に 90.2，84.4%，グルタミン酸に6.2，9.8%，アラニンに 3.6，5.7%の C^{14} の移行が認められた。なお，外套膜組織中の有機酸の含量はプロピオン酸 8.0，グリセリン酸 7.6，乳酸 4.6，コハク酸 3.5 mg/g であつた。（永山）

雑　　録

○ 12 月関東在住役員会

1. **開催日** 昭和 34 年 12 月 21 日
2. **場　所** 東京水産大学会議室
3. **出席者** 田内会長他 21 名
4. **議　事**

a. 昭和 35 年度農学会評議員および文部省科学研究費等分科審議会委員選挙について。

本件につき評議員による投票の結果，農学会評議員には大島泰雄氏および松江吉行氏が，同運営委員には新崎盛敏氏が選出された。科学研究費等分科審議会委員候補者には松江吉行氏および久保伊津男氏が選出され，学術会議第 6 部長に報告したが，このうちの一名が委員に決定される。

b. 昭和 35 年度年会の開催について。

日本農学大会水産部会は，4 月 4 日より 6 日まで東大教養学部において開催されることになり，委員長栗田晋氏より挨拶があつた。なお評議員会は 4 月 3 日に東京水産大学会議室において開催される。

c. 1960 年度第 6 部関係国際学術会議派遣代表候補者推薦について。

1960 年度に開催される予定の第 6 部関係国際会議のうちから，本学会に関係あるものを選出した結果はつぎの通りである。

	会　議　名	会　期	開　催　地
1	2nd Symposium of the International Association of Veterinary Food Hygienists. （第 2 回国際獣医食品衛生学会議）	5月 15日～21日	Basel (Switzerland)
2	International Conference on the Biological Effects of Ionizing Radiations. （イオン化放射能の生物学的影響に関する国際会議）	未　定	未　定
3	50th Annual Meeting of the International Council for the Exploration of the Sea. （国際海洋探査会議 50 回年次会）	未　定	U.S.S.R.

この結果は支部長を経て各会員に連絡し，代表候補者名を本会事務局宛提出されるよう依頼した。

d. 自然保護に関する研究連絡協議会（仮称）の設立準備について。

本件に関し設立準備委員に久保伊津男氏および島津忠秀氏を委嘱した。第 1 回準備委員会は 12 月 3 日に開催されたが，久保氏より経過報告があつた。

e. 対外関係： 交換開始 1 件（本誌 26 巻 1 号より）

交換先は Fish Commission of Oregon Research Laboratory. 交換書目は Contribution および Research Briefs. (12–3)

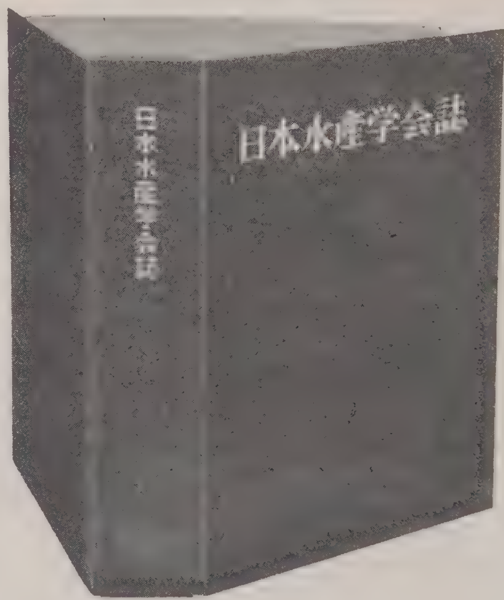
f. 入会承認

個人 18名（うち外国 1 名）

正　誤　表

Vol. 25, No. 10–12 p. 680 脚註のところに （印刷費負担） が入る。

会誌 論文集 合本用ファイル (B 5 判) 実費頒布御通知



水産学会誌 1 年分を簡単に製本出来る。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあげず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価	厚さ 4.5 cm	¥ 120
	〃 6.0 cm	¥ 130
		〒 ¥ 20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

○学会所定原稿用紙価格 送料共 金 100 円

昭和三十五年一月二十日 印刷
昭和三十五年一月二十五日 発行

第二十六巻 第一号

本号定価 140 円
([illegible])

編集兼発行者 久保伊津男
東京都港区芝海岸通り 6 丁目 東京水産大学内

発行所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り 6 丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529 番
電話 (45) 2200 番

印刷者 笠井康頼

印刷所 株式会社 国際文献印刷社

発売所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町 184
電話 (34) 7446

アサリ養殖における有害動物としての カクレガニの生態—I.

アサリ *Tapes japonica* に共生するオオシロピンノ *Pinnotheres sinensis* の生態とアサリの身入りにおよぼす影響について

杉浦靖夫・杉田昭夫・木原正光

(1959 年 10 月 9 日受理)

THE ECOLOGY OF PINNOTHERID CRABS AS PEST IN CULTURE OF *TAPES JAPONICA*—I.

PINNOTHERES SINENSIS LIVING IN *TAPES JAPONICA* AND THE INFLUENCE OF THE CRAB ON THE WEIGHT OF THE HOST'S FLESH.

Yasuo Sugiura*, Akio Sugita and Masamitsu Kihara**

The present paper is a record of the ecological observations of *Pinnotheres sinensis* as pest in culture of *Tapes japonica* and the influence of the crab on the weight of the host's flesh.

It was not observed that two or more female crabs were living in one host. Few male crabs were observed in host and five living with female were found among thirty-seven crabs. One of the writers caught a male crab walking on the outside of the mussels (*Mytilus edulis*) in the field. The berried crabs were found from July to October, exceptionally in June and December (Fig. 1) but the optimum hatching season ran from September to October at water temperatures ranging from 24°C to 19°C. From next May to July many young crabs were found in the host (Fig. 2) and they became to berry in Autumn. The biological minimum size was 5.3 mm in carapace length. Large crabs (over 8 mm) began to decrease in number from summer. The size of berried crabs varied in accordance with the period in breeding season. The highly infested region with *Pinnotheres sinensis* was situated along the channel (Fig. 3).

In the laboratory, some female crabs free from the host were possible to live fairly long time viz. 4～6 months.

Tapes japonica infested with *Pinnotheres sinensis* was lean without regard to their size or season (Fig. 4, 5).

緒　言

アサリ養殖上の加害動物の一種としてのオオシロピンノ *Pinnotheres sinensis* に着目し，ここ3年間千葉県木更津海岸でその生態と宿主アサリの身入りにおよぼす影響について調べてきたので，ここにその一部を報告する。木更津でアサリの中に見出されるカクレガニは普通オオシロピンノ，アサリピンノ *Pinnotheres gordoni* の2種である。両者が同時に同一のアサリに入つていることも少くなく，生態的に関係があるように思えるが，ここでは便宜上前者を主体に述べる。一般にカクレガニの貝に対する関係を共生とするか寄生とするかは従来定説がない[1)]。しかしこの場合は片利共生と考えられる。

* 東京水産大学木更津実習場 (Kisarazu Fish. Lab. Tokyo Univ. Fish. Kisarazu, Chiba Pref., Japan).
** 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish. Minato-ku, Tokyo, Japan).

この研究の端緒を与えられ，終始懇篤な指導と校閲の労を執られた東京水産大学教授久保伊津男博士に深甚の謝意を表わす。また研究に関して助力を頂いた同大学木更津実習場片田実博士ならびにカニの共生率の地域性調査について協力を与えられた同大学宇野寛講師に感謝する。

材料および研究法

形態，性比，雌雄ごとの月別共生状況，雌の甲長別による量的な消長，抱卵ふ化状況，生物学的最小形，カニの共生がアサリの身入りにおよぼす影響などに関して，1956 年 9 月より 1959 年 8 月に至る間毎月 1 回一定の場所（木更津海岸で被害の多いところ）から採集した殻長 30～50 mm のアサリについて調査観察した（供試数は，はじめの 2 年間は毎月 100 づつ，第 3 年目には 50 づつ，総数 3,000 個）。定期採集地は Fig. 3 に示すように岸から約 500 m 沖の，みおの合流点に隣接した一定区域 (30×20 m) である。その底質は二枚貝の死殻に覆われ，砂質で固い。盤高は平均水面下約 75 cm で大潮時には干出する。アサリのまき付，採取などの人為的影響は少ない場所である。共生率の地域性の調査については 1958 年 6 月 30 日～7 月 1 日および 1959 年 6 月 27～28 日地先の干潟で，Fig. 3 のように定期採集地を含めたそれぞれ 20，15 地点を選び，各点で面積 1 m²，深さ 10 cm までの砂中にすむすべてのアサリを採集し，殻長 20～50 mm のものについてカニの共生率を調べた。大きさの表現はアサリでは殻長，カニでは甲長による。なお甲長は正中軸の前縁から後縁までの距離である。これらの測定は第 1 年目は生貝を，2 年目以降はホルマリン固定[2] の材料を用いた。

実 験 結 果

I. 形態，生態　供試ガニの形態を分類に重要な標徴についてのべると次記のとおりである。第 3 がく脚の指節は小さく，その前節の先端にわずかに到達しない程度であり，前節の先端は鈍円形である。第 1 歩脚の指節は第 2 歩脚のそれよりも短かい。第 3 歩脚は最も長く，その腕節と前節はほぼ等長で，腕節は第 4 歩脚のそれの約 2 倍，前節は第 4 歩脚のそれとほぼ等長，指節は第 2 歩脚のそれの約 2 倍である。第 4 歩脚

Table 1. Rate of occurrence of *Tapes japonica* infested with *Pinnotheres sinensis* and number of crabs forund. T, Nos. of *T. japonica* used. I, Rate (%) of occurrence of *T. japonica* infested with *P. sinensis*. ♀, ♂, Nos. of female and male crabs found.

Date	T	I	♀	♂	Date	T	I	♀	♂	Date	T	I	♀	♂
1956					1957					1958				
Sept. 18	100	66	64	2	Sept. 8	100	52	52	0	Sept. 14	50	32	16	6
Oct. 15	〃	68	67	1	Oct. 9	〃	32	32	0	Oct. 11	〃	24	12	0
Nov. 15	〃	64	63	1	Nov. 6	〃	20	20	0	Nov. 19	〃	4	2	0
Dec. 12	〃	53	52	1	Dec. 17	〃	59	57	2	Dec. 23	〃	10	5	0
1957					1958					1959				
Jan. 14	〃	44	44	0	Jan. 9	〃	60	58	2	Jan. 16	〃	8	4	0
Feb. 15	〃	55	54	1	Feb. 6	〃	50	45	6	Feb. 14	〃	16	8	0
Mar. 15	〃	49	49	0	Mar. 9	〃	34	32	2	Mar. 27	〃	20	9	1
Apr. 13	〃	48	48	0	Apr. 7	〃	47	46	1	Apr. 24	〃	18	9	0
May 11	〃	68	65	5	May 2, 17	〃	51	51	1	May 22	〃	30	13	2
June 8, 14	〃	60	59	1	June 16	〃	57	56	2	June 20	〃	20	10	0
July 11, 13	〃	73	71	3	July 4	〃	48	48	0	July 18	〃	44	22	0
Aug. 8	〃	61	60	1	Aug.12	〃	29	27	2	Aug. 16	〃	28	14	0
Total (T, ♀, ♂) and Average (I)	1200	59	696	16	Total (T, ♀, ♂) and Average (I)	1200	45	524	18	Total (T, ♀, ♂) and Average (I)	600	21	124	3

の指節はほとんど真直で最も長く，同脚の前節と等長で，先が次第に細くなり毛をそなえている。これらの特徴が SHEN の原記載[3]と一致するばかりでなく，その他の諸点でも一致するので，ここで研究の対象にしたカニはオオシロピンノ *Pinnotheres sinensis* SHEN に同定される。

このカニは木更津では，アサリのほかに宿主としてムラサキイガイ，マガキ等にも普通に見出されるが，ハマグリには，まれにしか発見されない。

アサリに住むオオシロピンノの雌は，甲長平均 6 mm 前後，甲殻は柔軟，カクレガニの中でも共生度合の高い方で，天然状態では宿主の体外で生活するには不向である。雄は雌に比べて必ずしも小形とは限らず，採集した 37 個体のうち 20 は甲長 5.0 mm 以上で，その半数は 7 mm 台に属している。なお最大のものは 7.8 mm である。アサリの中に雄ガニが見出される割合は非常に少なく，本調査の範囲では雌 1,344 に対し雄 37 である。定期的に採集したアサリについて，月別共生率とアサリから見出されたカニ数をまとめると Table 1 のとおりである。これらは年によつて変化するようであるが，少くとも定期採集地点では継続して高度の共生が認められる。オオシロピンノはしばしばアサリピンノと同時に同一宿主内に見出されるが，オオシロピンノの雌だけが 2 個体以上同時に同一の宿主内に発見された例はない。これは一時的には重複しても程なく淘汰の結果 1 個体だけが生き残ることによるものらしい。実際に宿主から取りだした雌同志を極めて狭い場所に一緒に入れておくと，互に接触して闘争する。雄が成体の雌と一緒に入つていたものは 37 個体のうち 5 個体である。雄には宿主体外で生活するものもあるらしく，1958 年 6 月 1 日には干潟でムラサキイガイの塊上をほふくしている雄 1 個体を採集した。その甲長は 5.5 mm である。抱卵カニの月別出現率は Fig. 1 および Table 2 に示すように，7 月（月平均水温 26°C）～10 月 (19°C)，とくに 9 月 (24°C) に最高である。例外的には 6 月 (22°C) および 12 月 (10°C) にも発見される。ふ化盛期は9～10月である。抱卵期にも抱卵しないカニの出現率が高いのは，*Sacculina* が寄生するものが多いためである。甲長別に月別のカニの出現頻度を示すと Fig. 2 のようである。これによつてカニの量的な消長を検討すると，12 月ごろから若干の小形ガニが出はじめるが，5～7 月には甲長 2～4 mm 台の小形のものがかなりまとまつて出現する。これらは主として前年



Fig. 1. Monthly occurrence of berried *Pinnotheres sinensis*.

Table 2. Seasonal change in occurrence of berried *Pinnotheres sinensis*.

Carapace length (mm) \ Month	June	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
4.0～4.5	0	0	0	0	0	0	0
4.5～5.0	0	0	0	0	0	0	0
5.0～5.5	0	0	2	1	1	0	0
5.5～6.0	0	0	5	6	1	0	0
6.0～6.5	0	1	13	26	12	0	1
6.5～7.0	0	4	11	17	1	0	0
7.0～7.5	0	7	4	16	1	0	0
7.5～8.0	0	3	0	3	0	0	0
8.0～8.5	2	1	1	0	0	0	0
Nos. of berried crabs	2	16	36	69	16	0	1
Nos. of crabs used	125	141	101	132	111	77	86
Mean water temperature (°C)	22	26	29	24	19	16	10

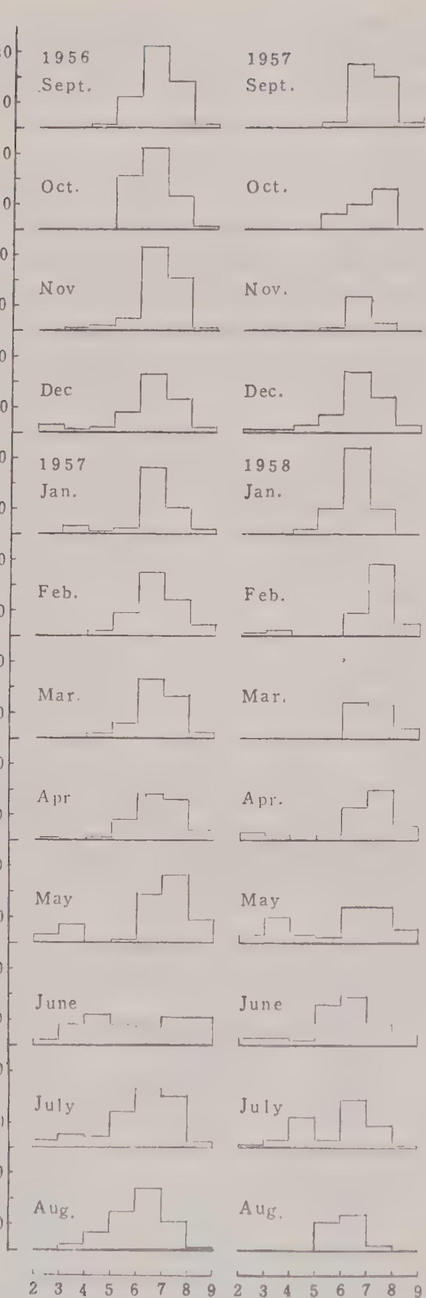


Fig. 2. Monthly size-frequency histograms (in number) of *Pinnotheres sinensis* (♀). Abscissa, Carapace-length(mm). Ordinate, Number of crabs found from 100 individuals of *Tapes japonica*.

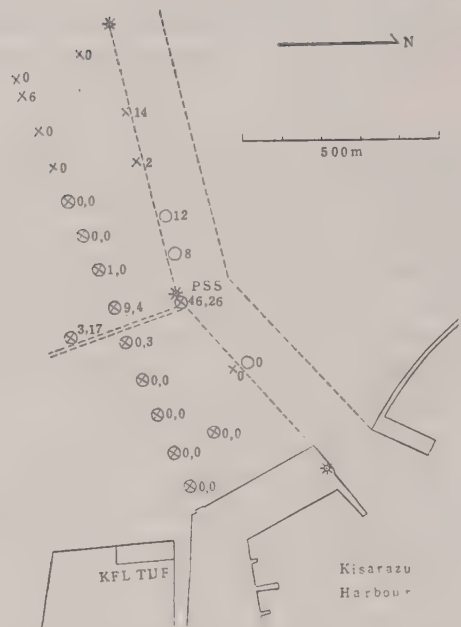


Fig. 3. Rate of occurrence of *Tapes japonica* infested with *Pinnotheres sinensis* in each region of Kisarazu coast. ×, 1958; ○, 1959; PSS, Periodical sampling station. Numerals, Rate (%) of occurrence (left, 1st year; right, 2nd year). ::::::, Channel.

秋期ふ化したカニらしく，10月ごろまでにはおおむね甲長5 mm 以上になり，抱卵するようになるものと考えられる。生物学的最小形は5.3 mm である。Table 2 に示すように月別の抱卵ガニを甲長別にみると，早い時期には大形のカニに，盛期にはそれより小形の甲長6 mm 台のカニに多い。前者は2(3) 年ガニ，後者は1年ガニに属するものと考えられる。小形ガニがややまとまつて出現するようになる6月ごろから，それと入れかわりに8mm台の大形ガニが減少していくように思われる。

共生率には地域性がみられるが，航路を含めたみおそいの地域，とくに定期採集地附近 (Fig. 3) に高度の共生帯が存在するのが認められる。

II. 飼育　宿主から取り出した雌ガニを室内で循環水槽および止水中で飼育したところ，容器内面に発生したランソオその他を食べ，長いものでは 4~6 ケ月生存した。しかし脱皮はみられなかつた。飼育中の水温の最高は 26.4°C，最低は 0.7°C，海水比重の最高は 1.0277，最低は 1.0225 である。上記の最低水温時にはカニは麻酔状態におち入つたが，温度を高めると程なく回復した。

幼生については実験室内でふ化させた zoea を *Skeletonema* を与え，megalopa から成体形幼生まで飼育するのに成功したが，この点に関しては別に報告する予定である。

III. カニの共生がアサリの身入りにおよぼす影響　カニの共生はアサリの身入りにかなりの影響を与えている。定期的に採集した材料のうち，アサリピンノとの混合共生の少ない秋期のもので，オオシロピンノが単独に共生するアサリ 352 と，カニがまつたく共生しないもの 325 について，それぞれ肉重と殻重との関係を調べると Fig. 4 のようになる。本種が共生しているアサリでは殻の重量（大きさ）に関係なく，共生していないものに比較して身入りが劣つている。はじめ 2 年間に定期的に採集した材料全部について，本種またはアサリピンノが共生しているアサリと，カニがまつたく共生していないアサリの身入率(R)(肉重×100/殻重)% の周年変化は Fig. 5 のとおりである。それによると，いずれの月もカニが共生しているアサリでは R が常に小さく，両者の R は季節には関係なくほぼ同一傾向で平行的に増減している。一般に冬から春先にかけ，両者ともアサリの生殖腺の充実による顕著な増重がみられるが，その増重率は両者ともほぼ等しいらしく，両者の変動は同規的である。カニが共生しているアサリの年平均身入率は共生しないアサリの 75% である。

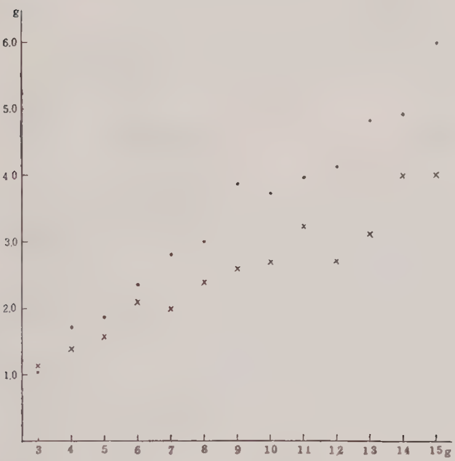


Fig. 4. Relation between flesh weight (ordinate) and shell (abscissa) weight (g) on average in *Tapes japonica* infested with *Pinnotheres sinensis* (♀).　×, infested; ●, control.

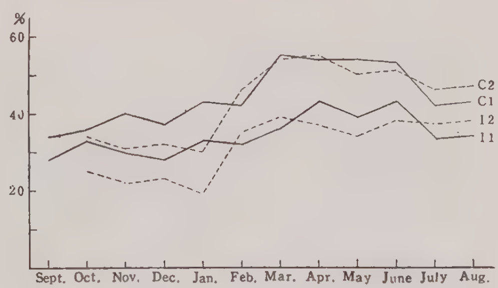


Fig. 5. Seasonal change in percentage of flesh weight/shell weight (ordinate) of *Tapes japonica* infested with *Pinnotheres sinensis* or *Pinnotheres gordoni*. Abscissa, Months. ——, 1st year;　····, 2nd year.　I_1, I_2, infested;　C_1, C_2, control.

論　　　議

宿主の種類について酒井[5] はカキ，アサリ，ハマグリ，イガイなどをあげており，今回の調査結果とほぼ同様である。SHEN[3] は中国で oyster の一種，恐らくは *Ostrea*，そのほか時折 *Tapes variegatus* などにも見出されるとしている。

SHEN は雄ガニについては甲長 3.4 mm のものについて記載しているが，今回の調査の結果では既述のように相当大形のものもかなり見出された。宿主外で生活しているものを採集したことや雌と宿主を一にしているものを若干見出したことなどから，一見交尾のために雄が雌のいる貝を選択して侵入するのではないかとも思われるが，大形の雄が如何にしてアサリに侵入するのか大いに疑問である。この問題を解決するためには甲長 2 mm 未満のカニの生態を明らかにすることが極めて重要であるが，これは現在の段階では今後の研究にまつほかない。なお CHRISTENSEN and Mc DERMOTT[6] は *Pinnotheres ostreum* で生活史を調べ，カニが宿主に侵入するのは第 1 幼蟹期であるとした。大形のカニ (2, (3) 年ガニ) が小形のカニ（1 年カニ）に比べて比較的早目に抱卵する事実を知つたが，これは CHRISTENSEN and Mc DERMOTT[6] が *Pinnotheres ostreum* で報告したのと全く一致する。共生率は主として航路を含むみおぞいの地域，とくに定期採集地域で高率を示したが，それらの場所は干潟動物の最も豊富なところでもある。その原因としてその付

近の水流が，各種生物の幼生の沈着および成育に好条件を与えるような状態にあるのではないかと考えられる。オオシロピンノの場合にも，これらの地域に共生率が高いのは，侵入時期にその幼生が水流のためにその地域に集積される結果ではないかと推察される。さらにこれらの場所はアサリ養殖場のヘリに当るので，アサリのまき付け，採取などの影響が少なく比較的大形の貝が多いことによるのではないかと思われる。

カニの宿主外室内飼育については三宅[8]によつて *Pinnotheres latissimus* についての報告がある。それによると無投餌で普通 3～4 ヶ月，長いものでは半年も生存していたことが報告されており，本種の場合とほぼ同様である。水温や鹹度などに対する適応性はかなり広いようである。

カニの共生がアサリの身入りに悪影響をおよぼしていることはすでに述べたとおりで，カニが共生しているアサリには，えらがかなりの損傷をうけているものも時に発見されるが，アサリはカニの共生によつて，一般に多かれ少かれ種々な影響をうけ，それが身入り低下の原因となるものと考えられる。しかしこの場合はカニにおける *Sacculina* 寄生の場合のように宿主の生殖腺の発達をとくに著しく阻害するような影響はないようである。

要　　約

1) 雌ガニが2個体以上重複してアサリと共生している例はみられず，これは一応原則的なものと考えられる。

2) 貝の中にいる雄ガニは少ない。大きさは雌に比べて必ずしも小形とは限らない。発見された 37 個体のうち5個体が成体の雌と宿主を一にしていた。また天然で宿主の外にいるものが採集されたが，これらの事実は交尾に関係があるように思われるが，なお疑問がある。

3) ふ化は水温 24～19°C の 9～10 月に最も盛んである。ややまとまつて小形ガニが出現するのは翌年5～7月ごろで，それが抱卵するのは秋期のようである。生物学的最小形は甲長 5.3 mm である。甲長 8 mm台の大形のカニが減少をはじめるのは，小形のカニの出現と前後しているようである。

4) 抱卵盛期前には大形のカニに，盛期にはそれよりも小形の 6 mm 台のカニに抱卵するものが多くなるが，後者は1年ガニと思われる。

5) 共生率最高の地域は航路を含むみおぞい，とくにその合流点にみられる。

6) 宿主外飼育は雌で長いものでは，4～6 ヶ月におよんだ。

7) カニが共生しているアサリの身入りは貝の大きさ，季節とは無関係に劣つている。しかしその変動傾向は無共生のものと周年同規的である。

文　　献

1) WELLS, W. W.: Ecological Studies on the Pinnotherid Crabs of Puget Sound, Univ. Washington Pub. Oceanog. **2**, 19 (1940).

2) 田中彌太郎： ホルマリン固定によるアサリの体重変化，西海研有明海報 **1**, 1 (1953).

3) SHEN, CHIA-JUI: The Brachyuran crustacea of North China, Zoologia Sinica Series A. **9**, 131 (1932).

4) 酒井　恒： 日本産カクレガニ科の分類，植動 **1**, 977 (1933).

5) ——： 蟹．紫生書院（東京），(1956).

6) CHRISTENSEN, A. M. and J. J. Mc DERMOTT: Life-history and biology of the oyster crab, *Pinnotheres ostreum* SAY, Biol. Bull. **114**, 146 (1958).

7) 大島信夫： 瀬戸内海「がざみ」調査，水試報 **9**, 141 (1938).

8) 三宅貞祥： アサリのヤドリガニのゾイア期について，九大農学芸雑 **6**, (1935).

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries Vol. 26, No. 2, 1960

イカの利用に関する研究—III.
スルメイカ魚体の各部分比およびその組成の季節的変化について

高 橋 喬

(1959 年 10 月 12 日受理)

STUDIES ON THE UTILIZATION OF CUTTLE-FISH, *OMMASTREPHES SLOANI PACIFICUS*—III.
THE SEASONAL VARIATIONS IN THE GRAVIMETRIC CONSTITUTION AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE VARIOUS PARTS OF THE BODY.

Takashi TAKAHASHI*

In the previous paper[1)], regarding the seasonal changes in gravimetric constitution of the cuttle-fish caugth in the sea near HAKODATE and seasonal variations in chemical composition of various parts of it, it was reported that there were no seasonal variations in the ratio of weight of each part, except viscera, to the body weight, and a considerable change was observed in the fat content of the liver. Such investigations were also made on the cuttle-fish caught in the sea adjacent HAKODATE by MATSUURA et al[2),3)] and by OKUDA et al[4)], but the details of the investigations on the cuttle-fish caught in any other fishing area have not been described.

Accordingly, the present investigations were carried out on the cuttle-fish caught in the sea near MIE prefecture from March, 1958 to May, 1959. And the results obtained were as follows.

The increase of body-lenght and -weight from May to September was large, a low increase of body-lenght and -weight appearing from November to March. There was a considerable seasonal variation in the ratio of weight of the viscera to the body, gravimetric constitution of the viscera changing extremely during November-March (Tables 2 and 3).

As to the seasonal variations of chemical composition, noticeable changes were shown in contents of moisture, total nitrogen and fat in the viscera and the liver. Both the viscera and the liver had maximum fat content in November, contrasting with minumum contents of moisture and total nitrogen in this month (Table 4).

前報[1)]において著者は函館附近で漁獲されたスルメイカについて，魚体の各部の分量比を調べるとともにその組成の季節的変化を測定し，魚体部分比の季節的変化の大きいものは魚体に対する内臓の量比並びに内臓に対する肝臓の量比であり，これらの量比の変化とともに脂肪の含量が大幅に変化することを報告した。スルメイカの魚体部分比およびその組成の季節的変化については松浦ら[2),3)]，奥田ら[4)]の報告があるが何れも函館地方で漁獲されたものであり（函館地方の漁期は 7 月から 12 月までである），その他の地域で採取されたものについてはこのような報告はあまり見受けられない。日本全沿岸を回遊域とするスルメイカは日本各地で漁獲される一般的なイカである。その回遊については不明の点が多かつたが，近年に至り添田[5),6)]は日本沿岸におけるスルメイカの回遊経路を明らかにし，各地方で漁獲の対象となるスルメイカは一元的なものであることを発表した。スルメイカの回遊の全ぼうについては同氏の言を引用すればつぎのようである。

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ., Mie).

“スルメイカは春期より夏期にかけて日本近海を北の海（樺太）に回遊し，秋期より冬期にかけて西南の海（九州）へと近海を一つの回遊区域とする大きい回遊をなす一系統で，北上回遊の途中において離島周辺に残留群を残すが，南下回遊のときにはこれを合一して九州西方海域まで移動する。北の海においてもその来遊期間中にわたつてわずかながらも産卵個体を漁獲することができるが，索餌の主体は北の海にあつて，産卵の主体は西南の海に分布する”。

三重県地方におけるスルメイカの漁期は Table 1[7),8),9)]に示すように春から夏にかけてと秋から冬にかけてとであるが，春から夏にかけて漁獲されるものは索餌のため北上途中のものであり，秋から冬期間に漁獲されるものは南下のものがその対象となるように考えられる。著者は三重県尾鷲市附近で漁獲されたスルメイカについて，季節的変化の激しいと考えられる魚体に対する内臓の量比，内臓に対する肝臓の量比，並びに内臓，肝臓の一般組成を調べ，年間を通じての季節的変化を知ることができたので結果を報告する。

Table 1. Catch of cuttle-fish in each month from 1955 to 1958 in the sea near MIE prefecture.

Year \ Month	Jan.	Feb.	March	April	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
1955	9	33	2	4	195	67	29	1	1	24	77	29
1956	10	9	0	9	79	75	48	40	1	1	6	15
1957	7	7	2	4	118	36	147	59	10	18	8	30
1958	48	5	3	8	36	32	29	100	58	30	14	20

unit ton

実験および結果

試料: 三重県尾鷲市附近の海域において 1958 年 3 月から 1959 年 5 月の間に漁獲されたスルメイカ 10～15 匹ずつについて測定を行なつた。

試料の処理ならびに測定法は前報[1)]に記載した方法を採用した。

1) 魚体および内臓各部の重量並びに重量比の変化

魚体および内臓各部の重量について季節毎に測定した結果は Table 2 に，またこれらの重量比は Table 3 に示すようである。当地方において 5 月に漁獲されるスルメイカはほとんどが幼少な個体であつて時折り老大な個体も漁獲される。1958 年 5 月に採取したものでは，たまたま老大な個体がその大部分を占めていたので，これだけについての測定値を参考までに表中に掲げた。そして 5 月中に漁獲される一般的な幼少な個体については，1959 年に採取し直した。

Table 2. Body-length, -weight and weight of various parts of cuttle-fish, from March 1958 to May 1959.

Date	Body length cm	Body weight g.	Weight of viscera g.	Weight of Liver g.	Weight of gonad g.	Weight of residual parts of viscera g.
March 11, 1958	26.0	447.0	101.0	33.1	56.7	11.2
May 15, 1958	24.5	348.0	81.3	24.6	48.4	8.3
〃 26, 1959	16.2	103.2	12.6	6.8	0.1	5.7
July 28, 1958	19.6	183.0	18.9	13.4	—	—
Sep. 6, 1958	23.0	350.8	46.3	31.9	—	—
Nov. 30, 1958	24.4	398.8	61.7	38.1	12.6	11.0
Jan. 26, 1959	24.9	375.0	73.0	43.9	18.5	10.6

Table 3. Ratio of weight of various organs to body weight and to viscera weight, from March 1958 to May 1959.

Date	% of Whole body				% of Whole viscera		
	Viscera	Liver	Gonad	Residual parts of viscera	Liver	Gonad	Residual parts of viscera
March 11, 1958	22.6	7.4	12.7	7.5	32.8	56.1	11.1
May 15, 1958	23.3	7.1	13.9	2.5	30.3	59.5	10.2
〃 26, 1959	12.3	6.6	0.1	5.5	53.9	0.8	45.3
July 28, 1958	10.3	7.3	—	—	70.4	—	—
Sep. 6, 1958	13.1	9.1	—	—	68.8	—	—
Nov. 30, 1958	15.5	9.6	3.2	2.8	61.6	20.4	18.0
Jan. 26, 1959	19.5	11.7	4.9	2.8	60.1	25.3	14.6

2)　内臓および肝臓の一般組成の変化

前項において魚体測定を行なつたものについて，その内臓および肝臓について二，三の性状の季節的変化をみた。結果を示すと Table 4 のようである。

Table 4. Seasonal variations in chemical composition of the viscera and the liver of cuttle-fish.

Date	Viscera			Liver		
	Moisture %	Total–N %	Crude fat %	Moisture %	Total–N %	Crude fat %
March 11, 1958	56.7	3.15	18.22	49.0	2.80	32.70
May 15, 1958	61.5	3.63	11.46	52.5	3.31	21.84
〃 26, 1959	62.3	3.92	7.38	62.3	4.02	6.37
July 28, 1958	63.5	2.78	19.91	56.4	3.01	21.40
Sep. 6, 1958	58.0	2.63	22.94	46.5	2.73	35.19
Nov. 30, 1958	51.3	2.47	32.58	41.5	2.80	40.25
Jan. 26, 1959	60.7	2.60	21.58	44.5	3.08	32.43

考　　察

Table 1 から知られるように当地方におけるスルメイカの漁期は 5~7 月および 11~2 月と年間 2 回にわたつてみられるが，この間における魚体および内臓各部の重量変化並びにこれらの重量比の変化は Table 2, 3 に掲げたように甚だしく大きい。すなわち春には個体も幼少であるが季節が進むにしたがい急激に生長し，冬には産卵に至るまで老大となる。この成長に伴ない，総体重当りの内臓重量比も大幅に変化する。5 月にはわずか 10% を占めるにすぎないものが 11 月には 15% となり翌年 3 月には約 23% を占めるようになる。これは Table 3 からも知られるように 5 月から 1 月まで徐々に増大していく肝臓と 11 月末から急激に増大する生殖巣のためであつて， 1 月末から 3 月にかけては生殖巣は内臓中最大の器官となり，その 55~60% を占めるようになる。スルメイカの生態的な関係から，前回において観察することができなかつたことであるが，全体重に対する肝臓の重量比は 5 月には 6% であるが，季節の進むにしたがい漸増し， 1 月には 11% 強に達し，その後は減少し生殖巣の最大となる 3 月には 7% になる。また全内臓に対して肝臓は幼少な個体では 70% を占めているが漸次減少し老大な個体ではわずか 30% 強を占めるにすぎないことが観察された。

このように各部分の重量比組成の大きく変動する内臓にあつては，その化学組成もまた季節に依り大きく

変化するが，Table 4 に掲げた全内臓および肝臓の化学組成の季節的な変化をみると，その変化の傾向は互に類似している。すなわち 5 月の幼少な個体の時には水分および窒素含量は 1 年を通じて最大であり，脂肪含量は最少である。そして時日の経過とともに水分，窒素含量は減少し，脂肪含量は増加し続け 11 月末頃には水分，窒素含量は最少となり脂肪含量は最大となる。この時期を過ぎると水分，窒素含量は増加し脂肪含量は減少して来る。各季節における全内臓の化学的組成と肝臓のそれとを比較すると，5 月の幼少時においては両者ともほとんど同一であるが，7 月から 3 月までは全内臓の水分は肝臓の水分より常に多く全内臓の脂肪含量は肝臓のそれより常に少ない。しかしながら窒素含量は水分および脂肪含量と異なり，7 月から 1 月までは肝臓の方が高く，3 月および 5 月（参考として掲げた老大な個体）の老大なものにおいては全内臓の方が高い値を示している。これは生殖巣が急激に増大することに依るものと考えられる。

三重県地方において漁獲されるスルメイカについて魚体各部分比並びにこれらの化学組成の 1 年を通じて季節的変化について調査したが，以上のように季節に依り相当変化あることが知られた。このように大幅に変化するのは，スルメイカが 1 年間で幼少な個体から産卵に至る老大な個体にまで生産する特殊な生態を有しているために生ずるもので，季節的な変化はこの場合生長の過程における変化とも考えて差支えないのでなかろうか。

前報[1] において報告した函館地方で漁獲されたスルメイカと三重県地方で採取されたスルメイカとの間における季節的なこれらの変化をみると，この場合 7 月から 12 月までの間の変化であるが，その変化の傾向は極めて類似しており，また非常に近似した数値を示している。当地方で夏期に漁獲されるスルメイカは添田[5),6)] のいうごとく北上途中の残留群であるか，あるいはおくればせながら北上中のものであるか知るよしもないが，非常に遠隔な地域において同一時期に採取される群は，たとえ日本沿岸で漁獲されるスルメイカは一系統に属するものであつても，漁獲の対象となる群として考えた場合明らかに別な群と考えられる。また函館地方での調査は数年前に行なわれたものであるが，これらの条件を考慮に入れて比較しても，なお極めて類似した結果が得られることは，生長速度が極めて速いというスルメイカの特異な生態に依るものと思考される。

終りに臨み，本研究の御指導を賜わつた本学立野新光教授に深謝するとともに，種々御助言を載いた本学宮崎千博教授，農林省三重統計調査事務所沖田朗徹氏，並びに試料の採取に御配慮頂いた乜鬼漁業協同組合理事長川上定文氏，津市魚市場川村和生氏，松坂魚市場専務取締役玉井恭平氏に深謝の意を表する。

文　　献

1) 川田　寛・髙橋　喬：本誌，**20**，888 (1955).
2) 松浦　寛・武田二美雄・金　兼吉・坂本高行：北水試月報，**7** (6)，8 (1950).
3) 松浦　寛・武田二美雄・金　兼吉・坂本高行・竹谷　弘：北水試月報，**9** (8)，30 (1952).
4) 奥田行雄・武田二美雄・竹谷　弘：北水研報告，**12** 号，59 (1955).
5) 添田潤助：北水試月報，**4** (4)，1 (1947).
6) 添田潤助：北水研報告，**14**.号，1 (1956).
7) 農林省三重統計調査事務所：三重農林水産統計年報，昭和 32 年，東海印刷，松阪 (1957)，pp. 170.
8) 農林省三重統計調査事務所：三重農林水産統計年報，昭和 33 年，東海印刷，松阪 (1958)，pp. 199.
9) 農林省三重統計調査事務所：三重農林水産統計年報，昭和 34 年，東海印刷，松阪 (1959)，pp. 154.

クロマグロと沿岸魚種との相互関係について

土 井 長 之

(1959 年 10 月 12 日受理)

ON THE PREDATORY RELATIONSHIPS AMONG BLUEFIN TUNA AND COASTAL FISHES IN THE SOUTHERN WATERS OF JAPAN

Takeyuki Doi*

As to theoretical models of prey-predator relationships among fishes, VOLTERRA's differential equations are well-known. Nevertheless, there are a great deal of criticism that those equations cannot stand for real circumstances of community of fishes or animals. But as the equations are convenient to examine the community problems of fishes, discussions about the equations are now often presented.

This report is a trial to prove whether VOLTERRA's equations are applicable to the predatory relationships between bluefin tuna, a predator, and coastal fishes in the southern waters of Japan. An electronic analogue computer was employed in solving the equation which is a kind of non-linear differential equations.

The following are the results obtained. First, relationships between bluefin tuna and common squid in the waters for the years 1951 to 1955 have been examined. In Fig. 2 the broken line, generated by a function fitter of the analogue computer, represents the actual variations in the stock of common squid for the years 1951 to 1955, and the other curves stand for the theoretical variations in the bluefin tuna computed by the analogue computer for various values of a parameter of VOLTERRA's equation. The graphical form in the middle of theoretical curves is similar to an actual variation of bluefin tuna. Therefore, as far as those years are concerned, it seems that these two fishes are in prey-predator relationships fitted to VOLTERRA's equation.

In the second place, for the years 1951 to 1956 instead of to 1955, it was found impossible to make a theoretical graphical form similar to actual variations of bluefin tuna. But when total catch of coastal fishes is considered instead of common squid alone, it is possible to find out the predatory relationships between bluefin tuna and the sum of coastal fishes for the year 1951 to 1956, as shown in Fig. 4.

From these results it is concluded that bluefin tuna and coastal fishes including common squid are in predatory relationships in the southern waters of Japan.

1. まえがき

生物社会における競存関係の理論的な取扱としては VOLTERRA の方程式がよく知られている。この式がそのまま生物相互間の現象にあてはまるとは現今では考えられていないが，それにもかかわらず，今だにこれについての論議がなされている[1-6]ことは，近似的にはある程度この方程式によつて競合関係の説明がつくためである。この報告はクロマグロと沿岸魚種との関係が VOLTERRA の方程式によつてどの程度に説明されるかを定性的に調べたものである。VOLTERRA の式は数学的にはいわゆる非線型の式であるから一般的にはなかなか解き難いが[6]，アナログコンピューターを使えばこの点は克服される。

2. アナログコンピューターによる VOLTERRA の式の解法

捕食魚の資源量を y，その餌料生物の量を x とすれば x, y の時間的変化を規制する VOLTERRA の式は

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.).

東海区水産研究所業績 B 第 325 号

つぎのようになる

$$\frac{dx}{dt} = Ax - By{\cdot}x \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

$$\frac{dy}{dt} = -Cy + Dx{\cdot}y \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

ここで B および D がそれぞれ生物相互間の関係をあらわす係数である。この報告では y としてクロマグロ[2),3)], x としてスルメイカあるいは沿岸魚種の総量を取扱つて計算してみた。

(1) 式と (2) 式の連立微分方程式を解いて実際の漁獲変動を比較することをアナログコンピューターで行う場合，二通りの計算方式が考えられる。1つはある年 ($t=0$) の実際の資源量を (x_0, y_0) とすれば，これを初期条件として翌年 ($t=1$) のもの (x_1, y_1) は連立方程式を解いて求めることができる。つぎに (x_2, y_2) をもとにして同様に (x_3, y_3) を求め得る。これを順次くり返すことにより x と y の理論上の時間的変化が求められる。この形と実際の漁獲変動の形とを比較することによつて実際の変化が VOLTERRA の式で解釈されるか否かがわかる。4つのパラメターについてはそれぞれいろいろな値を入れてみて計算しなければならないのはもちろんで，いくつかの試行のうち形の合うものがあればその値を魚種間関係のパラメターであると推定する。

第2の方法は y として実際の捕食魚の時間的変化をとり（これはアナログコンピューターでは任意函数発生装置によつて可能である)，(1) 式のみを解いて x の理論的な時間的変化を求め，これが実際の x と合うか否かを比較する方法である。また逆に x の実際の餌料魚種の時間的変化を任意発生函数発生装置でとつて (2) 式のみによつて y を解いてもよい。この報告では第2の方法によつた。

3. クロマグロとスルメイカの関係

クロマグロと沿岸魚種との関係は南海区水域の問題として取上げられた歴史がある[2),3)]のでこの資料によつて計算をすすめた。Fig. 1 は南海区水域の昭和 26 年より 31 年までのクロマグロとスルメイカの年変化であつて，太い実線が捕食魚としてのクロマグロ，点線はクロマグロの餌となるスルメイカである。計

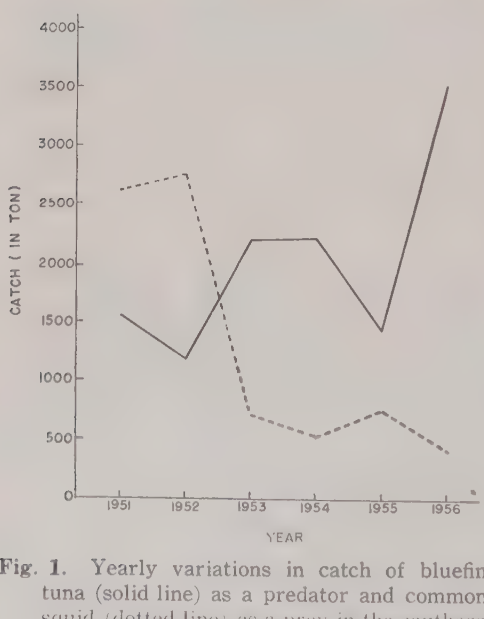


Fig. 1. Yearly variations in catch of bluefin tuna (solid line) as a predator and common squid (dotted line) as a prey in the southern waters of Japan for the years 1951 to 1956.



Fig. 2. Actual variation in common squid stock for the years 1951 to 1955 and theoretical variations of bluefin tuna computed by an analogue computer from Volterra's equation of predatory relationships. Broken line (a), generated by a function fitter of the analogue computer, represents the actual variation of common squid and assembly of curves (b) are the graphical forms of the theoretical variation of bluefin tuna for various values of a predatory parameter. One of the theoretical variations (the third line from above) approximates to actual one shown in Fig. 1.

岸魚種のうちでは，スルメイカがクロマグロの餌として比重が大きいようである。

スルメイカを (1), (2) 式の x とし，その時間的変化が明らかである場合の理論的な捕食魚の量 y をアナログコンピューターで求めたのが Fig. 2 である。

すなわち，昭和26年より30年までのスルメイカの年変化 x を任意函数発生装置でつくつたものが Fig. 2 の折線 (a) であり，これに対応する y が曲線群 (b) として求められている。Fig. 2 では，(2) 式の D は 0.6 で C を 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0（曲線群の上より）に変えた場合の曲線群である。実際のクロマグロの年変化と対比してみると $C=0.2$ の場合にほぼ同じ形になる。

生物群集の増大には密度効果を無視することはできない。これを考慮すると，(1), (2) 式の代りに

$$\left.\begin{aligned}\frac{dx}{dt}&=Ax-By\cdot x-\alpha x^2\\ \frac{dy}{dt}&=-Cx+Dx\cdot y-\beta y^2\end{aligned}\right\}\quad\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(3)$$

と書くことができる。α, β が密度効果の係数である。この場合についてアナログコンピューターで実際に計算してみると，解の形としては密度効果のない場合と殆んど同じようなものが得られる。しかしその場合の C や D の係数の値は密度効果のない場合とは異つていることはもちろんである。このように密度効果を考えると否とにかかわらず定性的な形としては同じものが得られることがわかつたので，以下の取扱は $\alpha=\beta=0$ として考えることにする。

つぎにスルメイカの年変化として昭和 31 年までのをとつた場合を計算してみると，(2) 式の C や D をいかに変えてもクロマグロの年変化と似た形を y として得ることができなかつた。すなわち昭和 30 年までならばスルメイカとクロマグロは (1) 式 (2) 式であらわされる捕食魚被捕食魚関係として解釈することもできようが，昭和 31 年の変動はそれだけでは説明し得ないことが明らかになつた。

4. クロマグロと沿岸魚種との関係

スルメイカとの関係のみではクロマグロの変動を説明できなくなつたので，次に沿岸魚種との関係をみてみよう。Fig. 3 におもな沿岸魚種の年変化を示してある。点線はそれらの総量である。

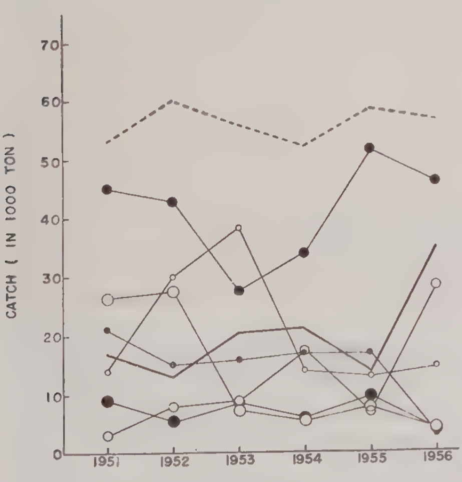


Fig. 3. Yearly variations in catch of bluefin tuna (thick solid line) and coastal fishes for the years 1951 to 1956.

●: sardine ○: pampanos
●: anchovy ○: mackerels
●: round herring ○: common squid
Dotted line: total of coastal fishes.

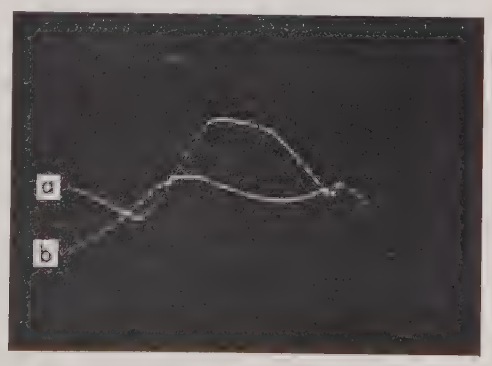


Fig. 4. Theoretical variation of total stock of coastal fishes (curve, b) and actual variation of bluefin tuna (broken line, a) for the years 1951 to 1956. Explanations for solving the theoretical one are the same as in Fig. 2. As the actual variation of total of coastal fishes is similar to theoretical one, it is not unreasonable to conclude that bluefin tuna and coastal fishes are in predatory relationships.

今クロマグロの昭和 26 年より 31 年までの年変化 y を任意函数発生装置でつくつて，餌料魚種 x を理論的に求めるとすると (1) 式のみを用いればよい。Fig. 4 はその結果であつて， 折線 (a) は実際のクロマグロ (y) であり，曲線 (b) は x の理論値で，パラメターの値は (1) 式の $A=0.96$，$B=1.6$ の場合である。 この x の形と沿岸魚種の年変化と形の似ているものは魚種別にはなく， 沿岸魚種総量 (Fig. 3 の点線) が似ている。このことはクロマグロと沿岸魚種総量との間には捕食魚——被捕食魚関係があり，それは VOLTERRA の式で説明されることも可能であることを示している。

5. 考　　察

南海区水域の魚種間関係が VOLTERRA の式であらわされるか否かをアナログコンピューターで計算した結果を示したのが以上述べてきたところであり，クロマグロとスルメイカとは昭和 30 年までは捕食魚——被捕食魚関係がなり立つが，昭和 31 年も含めた資料ではこの関係は見出されず，その場合にはクロマグロと沿岸魚種総量とにこのような関係が見出された。なお，つぎのような 2，3 の前提があることを注意すべきである。

以上の取扱では資源の大きさは漁獲量と相対的に比例することを仮定している。漁獲量は分つているが，資源量は不明である。普通には資源量の指数として単位漁獲量当りの漁獲量を以つてするが，一般にそれと漁獲量とは比例することが多いので，この報告では漁獲量の変化で以つて資源量の目安としている。このことがみとめられない場合には相対資源量で計算しなければならない。

魚種間関係のパラメターの推定値は一応記してあるが，この値はあくまでも定性的なものであつて，たとえば密度効果を考慮するならば推定値は変つてくる。だが形としては大体同じものを得るから VOLTERRA の式があてはまるか否かを判定する定性的な考察にはどちらでも同じである。ゆえにパラメターの推定値は絶対値とはみなさず相対値としてみるべきものである。

これらの前提あるいは仮定のもとで，クロマグロとスルメイカまたは沿岸魚種との関係が捕食魚——被捕食魚関係として考えてもよいことがわかつた。しかしクロマグロの胃内容物の種類と量，クロマグロの分布区域の季節的変化，クロマグロ体重分布の経年変化[7] 等を考えに入れて取扱つたものでなく，統計資料よりのみの結論であるからこのような生物学的基礎については別に検討されねばならないだろう。

終りにアナログコンピューターの計算に多大の労をわずらわした嶺山美和子氏に深く感謝する。

文　　献

1) 横田滝雄： 魚類の群聚について，昭和 30 年底魚担当官会議資料，(1955).
2) 横田滝雄・浅見忠彦： 昭和 28 年鰮資源協同研究経過報告，南海区水研，(1956).
3) 農林水産技術会議： 昭和 31 年度水産資源に関する研究協議会経過概要，(1957).
4) BARTLETT, M. S.: On theoretical models for competitive and predatory biological systems, *Biometrika*, **44**, 27～42, (1957).
5) LESLIE, P. H.: An Analysis of the data for some experiments carried out by Gause with populations of the protozea, *Paramecium aurelia* and *Paramecium caudatum*. *Biometrika*, **44**, 314～327, (1957).
6) ――――――: A Stochastic model for studying the properties of certain biological system by numerical methods, *Biometrika*, **45**, 16～31, (1958).
7) 山中　一： クロマグロの研究—I．漁獲物の体生分布にみられる Mode，南海区水研報告，**9**，125～135，(1958).

EXPERIMENTAL FISHING TEST ON THE EFFICIENCY OF DOUBLE GILL NET

Masatsune NOMURA*

(*Received Oct. 19, 1959*)

Introduction

Use of nylon cord for gill nets has become increasingly popular among fishermen because its greater pliability and less visibility under water than ordinary materials have been proved advantageous for promoting fishing efficiency. Along with this progress in material, construction of the gear has also made a notable improvement by adopting the so-called trammel type to bottom gill nets.

Of several merits the trammel net has, one is that it can entangle fish without so much selectivity of size of fish as in ordinary single gill nets. In another advantage, we may be able to alleviate inclination of the net due to current, and thus to extend an effective width of the net, for it has both buoyancy and sinking power greater than the single gill net. The fact suggests a possibility where the trammel net is operated not only in a current suitable for the single net but under stronger one, as well. On the other hand, some of disadvantage the trammel net has consist in difficulties of handling it when casting or hauling it up, removing the catches, repairing and so forth. Therefore, this mode of net construction can not be recommended for ordinary drift nets which are supposed to seize a large amount of fishes—say, sardine—at a time. Nevertheless, in other types of fisheries, the trammel net may be like to demonstrate reasons for which it may be superseded for the single drift net. Up to the present time, single drift net has been a major type of gear in northern North Pacific for salmon fishing. As yet the ratio of salmon falling off the net has been supposed to be some extent partly due to the mesh size unfitted for some individuals and partly due to a failure in perfectly entangling the catch. Moreover, the density of fish distributed in that part of the sea is comparatively thin so that the mean amount of catch per unit of drifters remains only at about ten individuals. Judging from these points, it is worthy of investigation whether or not the efficiency of salmon fishing can be risen by the use of trammel net. With this view in mind, the author carried out preliminary experiments to deduce fishing efficiency of the trammel net at a fish farm of the Tokyo University of Fisheries, at Ōizumi, Nagano Prefecture in November 1958, using the rainbow trout *Salmo irideus* (GIBBONS) reared there.

* Tokai Reg. Fish. Res. Lab., Tsukishima, Chuo-ku, Tokyo, Japan (野村正恒，東海区水産研究所)
Contributions B, No. 317 from the Tokai Reg. Fish. Res. Lab.

Method and condition of the experiments

In discussing the function of trammel net, use of a double net is thought to be convenient for the experimental purpose. Because the double net will be enable us to examine difference in fishing efficiency between large mesh webbing on one side and small mesh webbing on the other as fish approach to either side of the net.

In the experiments five units of the double nets had each different small mesh webbing from the others in regard to either slackening b against the large mesh webbing, shortening s, or mesh size L, though the net N_{D2} is regarded as the standard type in these experiments. The value of b is represented by the ratio of the width of small mesh webbing against the width of large mesh webbing when the both are hanged individualy in vertical under the condition of given shortening in horizontal respectively. An ordinary gill net (hereinafter called the single net) has been used as the control. The values of these characters are indicated in Table 1.

Table 1. Construction of small mesh net used for the experiment

Type of net		Slackening "b"	Shortening "s"	Mesh size "L"	Width × length (number of mesh)	Tank	Date (1958)	Testing time
Single Net	N_S	—	0.45	1.8 sun* (5.45 cm)	20×132	P	11.12	17.00~22.00
							11.13	03.00~06.00
						Q	11.13	17.00~22.00
							11.14	03.00~06.00
Double Net	N_{D1}	1.1	0.55	(,,)	19×168	P	11.11	17.00~22.00
							11.12	03.00~06.00
						Q	11.10	17.00~22.00
							11.11	03.00~06.00
	N_{D2}	1.3	,,	(,,)	23×168	P	11.10	17.00~22.00
							11.11	03.00~06.00
						Q	11.11	17.00~22.00
							11.12	03.00~06.00
	N_{D3}	1.5	,,	(,,)	26×168	P	11.13	17.00~22.00
							11.14	03.00~06.00
						Q	11.12	17.00~22.00
							11.13	03.00~06.00
	N_{D4}	1.3	0.45	(,,)	24.5×132	P	11.15	17.00~22.00
						Q	11.14	17.00~22.00
							11.15	03.00~06.00
	N_{D5}	1.3	0.55	1.4 sun (4.24 cm)	29×216	P	11.14	17.00~22.00
							11.15	03.00~06.00
						Q	11.15	17.00~22.00

* One *sun* equals 3.03 cm.

Amilan (Toyo nylon) 210 D/6, was used for the single net as well as the small mesh webbings of the double nets. The scale of the completed double nets may be represented by that of the large mesh webbings which had the same specifications among the five units as follows:

Material:	Amilan 210 D/9
Mesh size:	7.2 *sun* (21.8 centimeters)
Shortening:	30 percent
Completed length:	4 meters
Completed width:	1 meter.

The accessories consisted of: float line, 16 monme twine, single with 20 pieces of synthetic float, each having buoyancy of 25 gr.; lead line, 3 monme twine, single, with 70 pieces of lead each weighing 4.3 gr. under water.

Two concrete tanks, P and Q, were used. Their dimensions were about 25×5×2 meters with the depth of water being 1.4 meters. In tank P 1,200 individuals of the rainbow trout were released, and 600 in tank Q. The average body length of the former was a little smaller than what seems to fit to the mesh size of 1.8 *sun* (5.45 centimeters), while the latter were fairly larger.

In order to avoid the influence of moon light, the experiments were conducted for about a week with the lunar chosen at the center of the period. Every day any one of the nets was tested in either one of the tanks, first for five hours from 17–00 till 22–00 involving evening twilight and subsequently for another three hours from 03–00

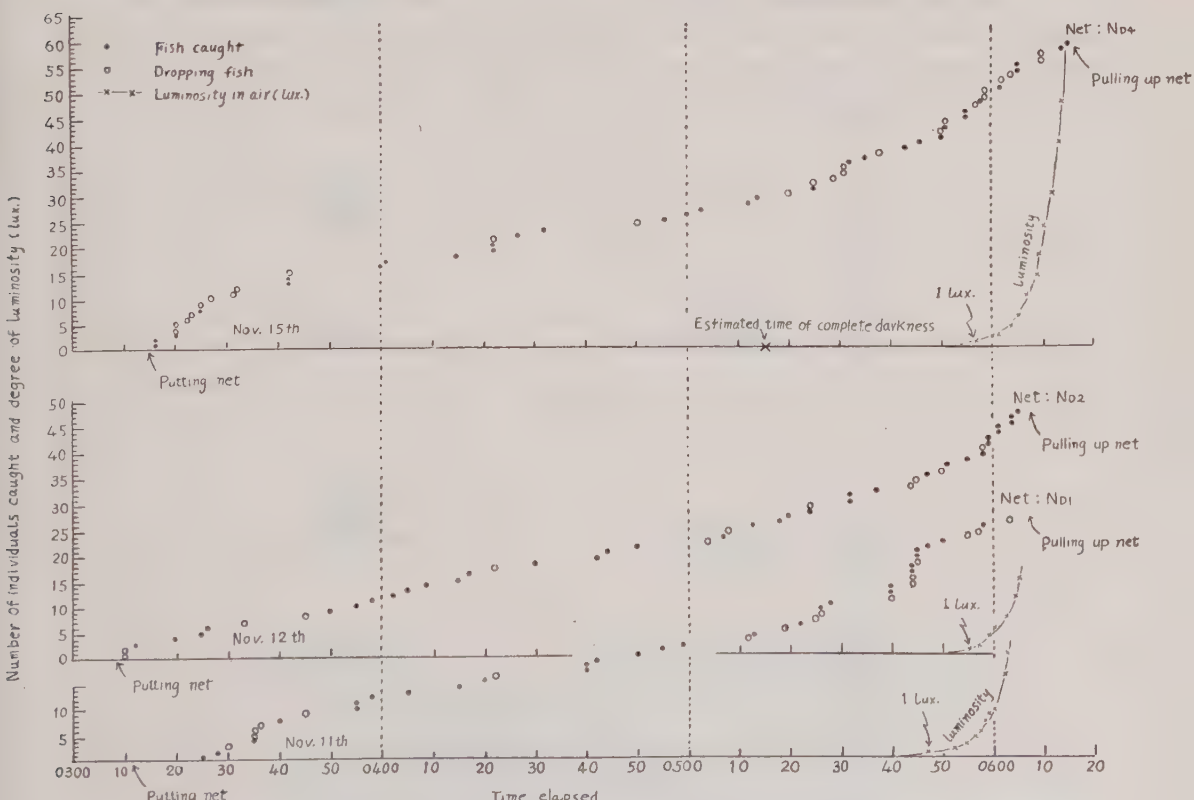


Fig. 1. Fishing condition in tank Q according to the time from 03.00 to 06.00 hours (example).

till 06-00 involving morning twilight. The net was made to float at the middle of the tank and kept clear off the walls and the bottom. Two strings, each fastened to either end of the float line, were held by hand on two sides of the walls. Thus, a shock produced by fish touching the net was transmitted to the hand with a pretty good sensibility. This shock was counted as "touch" to distinguish it from "catch". The catch, though it took place in various parts of the net, was larger in number at the lower portion than the upper.

Whenever the observers felt the shock, the net was slowly pulled out of the water. A fish caught was removed from the net and released again into the tank. Observation data put on record include: time of fishing, part of net, part of the body or status entangled, swimming direction when fish made contact with the net, symbol "+" denoting the direction from small mesh side to large mesh, and "−" *vice versa*. The numbers of fish that fell off the net half-way were separately noted as "drop". As an example, an accumulated numbers of fish according to the time elapsed in the morning in tank Q are shown in Fig. 1.

Discussion on the results

The relations between the length and gill circle of the fish population were determined as plotted in Fig. 2 on the basis of 100 individuals sampled at random by a dip-net from tank P, and fifty from tank Q, both representing nearly 10 percent of the

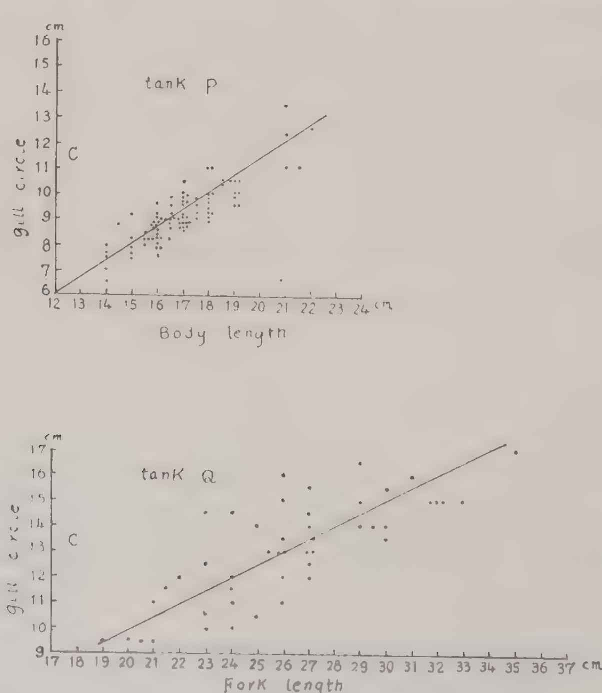


Fig. 2. The relation between length and gill circle of the population in the tanks.

stock in either tank.

In the measurement, the body length (from the tip of the snout to the posterior end of the vertebra) was used for fish from tank P, and the fork length (from the snout to the cartilaginous median part of the caudal fork) for fish from tank Q. In the following discussion, the length of fish should refer to either one of these measurements depending on the source of fish specified.

Fig. 3 shows the length distributions of the sampled fish and of those caught in each experiment. According to a previous study (Nomura, 1959) dealing with relation

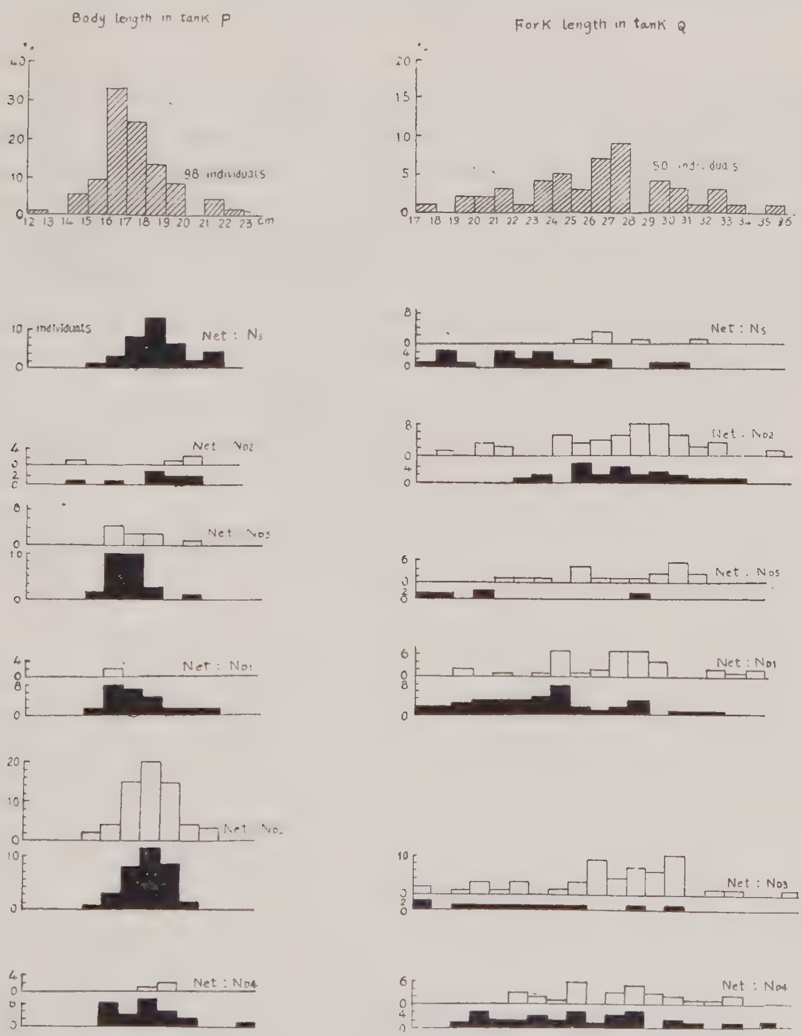


Fig. 3. The length distributions of the rainbow trout population in the tanks and of fishes caught by experiments.

(hatched bar) : length distribution of fish sampled by scooping

(open bar) : length distribution of fish caught by entangling

(solid bar) : length distribution of fish caught by gilling

Blacket shows the length range suitable for 5.5 centimeter mesh.

of the gill circle of fish to certain mesh size, optimal gill circle to a 5.5-centimeter (1.8 *sun*) mesh can be roughly calculated as 9.5 to 10.5 centimeters. By reference to Fig. 2 this can be converted into an optimal length, which is 17 to 19 centimeters in the body length for the group in tank P and 19 to 21 centimeters in the fork length for the group in Q. Since the group P had the mode of length distribution at 16 to 17 centimeters, while the group Q at 27 to 28 centimeters (Fig. 3), the former was a little smaller, and the latter fairly larger, than the optimal size of the mesh referred to above. Thus, the fish in the both tanks looked possessing satisfactorily requirements needed for investigating differences in mesh selectivity of the gill nets under test.

1. Characteristics of the nets relevant to length distribution

As is evident from Fig. 3, the mode of length distribution of catches by the single net was nearly the same with the optimal length calculated for the 5.5 centimeter mesh. In case of the group Q large-sized fish, the length range produced by the single net was considerably narrower than the length range by anyone of the double nets, with a few catches entangled in net being somewhat larger than the average. This was quite natural for the single net in view of its fishing function. On the other hand, efficiency of the double nets was higher for large fish of group Q than for those having

Table 2. Characteristic values showing relative

Tank P

	C_G		C_T		D		A	T	f	f'	$\frac{C_G}{C_D}$	$\frac{D}{C+D}$	$\left(\frac{C}{C+D}\right)_+$	$\left(\frac{C_T}{C+D}\right)_+$	$\left(\frac{C}{C+D}\right)_-$	$\left(\frac{C_T}{C+D}\right)_-$
	+	−	−	+	+	−										
N_S	41		0		18		60	119	.34	.50	∞	.31				
N_{D1}	21	7	2	0												
	28		2		18		29	77	.39	.62	14	.34				
N_{D2}	24		13		13		37	87	.43	.58	1.9	.26				
N_{D3}	19	30	49	17	2	15										
	49		66		17		37	169	.68	.78	.74	.13	.97	.70	.76	.27
N_{D4}	13	9	2	1	2	4										
	22		3		6		34	65	.38	.48	7.3	.19	.89	.12	.71	.07
N_{D5}	20	12	9	4	8	17										
	32		13		25		40	110	.41	.64	2.5	.36	.78	.24	.48	.12

Heavy numerals indicate the number of fish gilled (C_G), trammeled (C_T), dropped (D), touched (A) or total of these (T).

the optimal size to the 5.5-centimeter mesh. However, there was no appreciable difference between the double and the single nets in catching the smaller fish in tank P. When N_{D2} and N_{D5} of the double nets in tank P are compared with each other, the latter net with smaller mesh appears to control the length of fish more strongly than the former. Further comparison between N_{D2} and N_{D1} with reference to slackening b, and between N_{D2} and N_{D4} in regard to shortening s revealed that the mode of length distribution tends to incline to the smaller side when the values of b or s becomes lower than those of N_{D2}.

2. Analyses of Fishing Efficiency

In detailed examinations of fishing efficiency of the nets under study, important factors that have to be considered may be expressed in the following formulae:

$$\text{Fishing rate:} \quad f=\frac{C_G+C_T}{T}=\frac{C}{T},$$

where C_G: the number of gilled fish,
C_T: 〃 〃 trammeled fish,
C : 〃 〃 catch,
T : the sum of fish including catch, "drop" and "touch".

efficiency of each net in the experiment.

Tank Q

C_G +	C_G −	C_T +	C_T −	D +	D −	A	T	f	f'	$\frac{C_G}{C_T}$	$\frac{D}{C+D}$	$\left(\frac{C}{C+D}\right)_+$	$\left(\frac{C_T}{C+D}\right)_+$	$\left(\frac{C}{C+D}\right)_-$	$\left(\frac{C_T}{C+D}\right)_+$
23		6		43		169	241	.12	.30	3.8	.60				
23	17	35	5	35	13										
49		40		48		122	259	.34	.53	1.2	.35	.66	.34	.63	.14
9	17	45	14	13	11										
26		59		24		71	180	.47	.61	.44	.22	.81	.67	.74	.33
10	1	49	7	6	38										
11		56		44		47	158	.42	.70	.20	.40	.91	.75	.17	.15
9	24	23	7	17	31										
33		30		48		93	204	.31	.54	1.1	.43	.65	.47	.50	.11
1	4	14	7	9	11										
5		21		20		41	87	.30	.53	.24	.44	.63	.58	.50	.32

+: Fish coming from small mesh net
−: Fish coming from large mesh net.

Assumed fishing rate: $f'=\frac{C_G+C_T+D}{T}=\frac{C+D}{T}$,

where D is the number of "drop".

Ratio of gilled fish to trammeled fish: C_G/C_T.

Ratio of "drop" to catch: $\frac{D}{C+D}$.

Fishing ratio when fish comes from small mesh side (+): $\left(\frac{C}{C+D}\right)_+, \left(\frac{C_T}{C+D}\right)_+$.

Fishing ratio when fish comes from large mesh side (−): $\left(\frac{C}{C+D}\right)_-, \left(\frac{C_T}{C+D}\right)_-$.

The values of these factors have been computed on the basis of the data from every experiment, and summed up values in the morning and in the evening according to respective net and tank as indicated in Table 2. In the table, A represents the number of "touch."

1). Comparative values between the single net and double nets.

Of all the nets under report, the single net had fishing rate, f, at the lowest, especially in tank Q which contained comparatively large individuals. In tank Q, moreover, the net presented the ratio of "drop", $\frac{D}{C+D}$ expressively large, and the value of C_G/C_T high as well. These are the points that make a difference between the single net and the double ones. The reason of the difference may be attributed to a limited function of the single net as it would offer few chances for catching fish though they may touch the net; even if fish had been in a state of being caught in the net, they were liable to drop half-way during hauling up the net. In fact, most of catches were found in a gilled state but rarely trammeled.

2). Effects of different slackening, shortening, or small mesh-size compared between N_{D2} and the other double nets.

With reference to the values in Table 2. comparisons have been made between: different slackening b which is 1.1, 1.3 or 1.5 for N_{D1}, N_{D2}, or N_{D3}, respectively: different shortening s which is 0.55 for N_{D2} and 0.45 for N_{D4}: different small mesh-size L, 5.45 centimeters for N_{D2} and 4.24 centimeters for N_{D5}.

Except these items specified above, the net had the same conditions with one another. From the results summarized in Table 3, it can be concluded that anyone of the double nets surpasses the rest in fishing function when it has either slackening, shortening, or size of small mesh, larger than the others.

In the both tanks, fishing ratio from small mesh side, $(C/_{C+D})_+$, is higher than the ratio from large mesh side, $(C/_{C+D})_-$.

This fact indicates the special character of fishing function of double nets.

3. The value of m based on the areal margin of small mesh net versus large mesh net in double net construction.

Here let us calculate an assumed value m that represents the ratio of area of small

Table 3. Comparative functions of a net different from the others

	Fishing rate f			Rate of "drop" $\frac{D}{C+D}$			Ratio of gilled to trammeled C_G/C_T			Fishing from small mesh $\left(\frac{C}{C+D}\right)_+$			Fishing from large mesh $\left(\frac{C}{C+D}\right)_-$		
Distinction of a net from the others	larger in slackening	larger in shortening	larger* in mesh	larger in slackening	larger in shortening	larger* in mesh	larger in slackening	larger in shortening	larger* in mesh	larger in slackening	larger in shortening	larger* in mesh	larger in slackening	larger in shortening	larger* in mesh
Tank P (fish size comparatively small)	large	large	no difference	small	large	small	small	small	small	—	—	—	—	—	—
Tank Q (fish size pretty large)	obscure	large	large	obscure	small	small	small	small	large	large	large	large	obscure	large	large

* The mesh size of so called "large in mesh" is a little larger than the gill circle of fish in tank P and "smaller in mesh" is a little smaller.

mesh net to area of large mesh net when both have the same 30 percent shortening, and this can be obtained by the following procedure. Now, a double net is constructed with,

(a) shortening of large mesh net at 30 percent,
(b) shortening of small mesh net as $100s$ percent,
(c) vertical slackening of small mesh net against large mesh net denoted as b,
(d) large mesh net is spread in square unit area r^2.

The length of small mesh net l stretched in the horizontal direction equals as $\frac{r}{1-s}$. When l' denotes l shortened by 30 percent,

$$l' = \frac{r}{1-s} \times 0.7 .$$

As to the width of small mesh net $b \times r$ under shortening s is

$$b \times r = a \times n \sqrt{2s-s^2} ,$$

where a is the mesh size, and n the number of meshes along the width of the net. The width vertically stretched is

$$a \times n = \frac{b \times r}{\sqrt{2s-s^2}} ,$$

therefore, the vertical length of small mesh net shortened by 30 percent, l'', is

$$l'' = \frac{b \times r}{\sqrt{2s-s^2}} \times 0.71 .$$

Then, the value of m can be given as

$$m = \frac{l' \times l''}{r^2} = \frac{\frac{0.7}{1-s} r \times \frac{0.71 \times b \times r}{\sqrt{2s-s^2}}}{r^2} = \frac{b}{2(1-s)\sqrt{2s-s^2}} .$$

The values of m computed for the double net under study according to respective s and b are given in Table 4. Fig. 4 shows the relation between these values of m and f, C_θ/C_T, $\left(\frac{C}{C+D}\right)_+$, and $\left(\frac{C_T}{C+D}\right)_+$ as in Table 2.

Table 4. The value of m of testing mets

	N_{D1}	N_{D4}	N_{D2}	N_{D3}
s	.55	.45	.55	.55
b	1.1	1.3	1.3	1.5
m	1.37	1.40	1.61	1.86

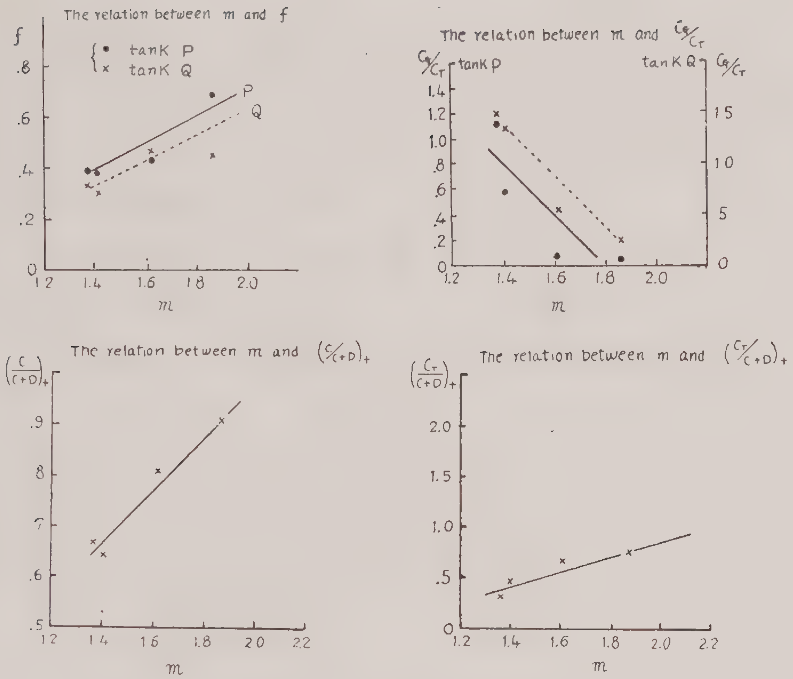


Fig. 4. The relation between m and the other values.

In Fig. 4 it is evident that these are nearly linear relationship between these values. Particularly the fishing rate, f, becomes greater with the increase in the value of m, at least within the range of m shown in Table 4.

In the above discussion, s has been used as the horizontal shortening and b as the vertical slackening. If we make another expression about this same construction of net such as s' expresses the vertical shortening and b' the horizontal slackening,

$$s'=\frac{\dfrac{b\times r}{\sqrt{2s-s^2}}-r}{\dfrac{b\times r}{\sqrt{2s-s^2}}}=\frac{b-\sqrt{2s-s^2}}{b}$$

Since $b'\times r=\dfrac{r}{1-s}\times\sqrt{2s'-s'^2}$, then b' is

$$b'=\frac{\sqrt{2s'-s'^2}}{1-s}.$$

Therefore the value m can be expressed as,

$$m=\frac{b}{2(1-s)\sqrt{2s-s^2}}=\frac{b'}{2(1-s')\sqrt{2s'-s'^2}}.$$

Under various combinations of s and b conceivable for a practical net construction, s', b' and m have been calculated from the above equations and arranged in Table 5 in the increasing order of m.

Table 5. Values of m under various constructions

S	0.55	0.50	0.45	0.55	0.50	0.55	0.50	0.60	0.55	0.50	0.60	0.55	0.60
b'	1.28	1.38	1.40	1.50	1.50	1.62	1.58	1.62	1.71	1.64	1.78	1.78	1.90
b	1.10	1.20	1.30	1.20	1.30	1.30	1.40	1.20	1.40	1.50	1.30	1.50	1.40
S'	0.19	0.28	0.35	0.26	0.34	0.32	0.39	0.24	0.36	0.43	0.30	0.41	0.35
m	1.37	1.39	1.40	1.49	1.50	1.61	1.62	1.64	1.73	1.74	1.77	1.86	1.91

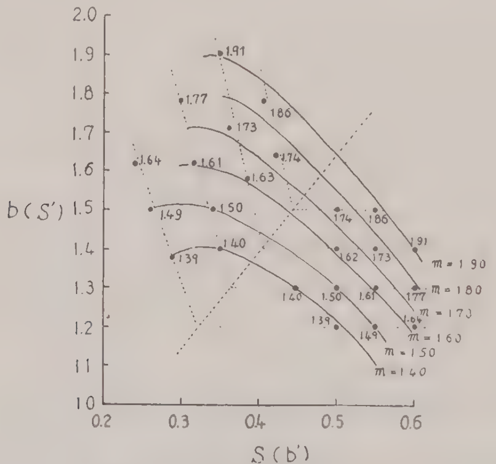


Fig. 5. Isometric line of m.

From Table 5, isometric lines of m in the various combination of $s(b')$ and $b(s')$ have been drawn in Fig. 5. This diagram would be of practical use for determining the essential factor, m, related with given values of $s(b')$ and $b(s')$ for designing a double net.

It may be worth adding here that fishing rate of double nets at sea may as well be affected by visivility of the nets, bioluminescence on them, and different resistance of meshes against current. However, as the present experiments were carried out by controlling or neglecting these factors, further experiments under uncontrolled conditions have to be performed in the future before recommending a double net to industrial use.

Acknowledgement

The author wishes to express his gratitude to Dr. M. Tauti, Professor Emeritus of the Tokyo University of Fisheries, for his guidance and revising the manuscript, and to Mr. S. Takayama for his valuable advice given in the present work. The hearty cooperation rendered by the members of the North Pacific Department of Taiyo Fishery Company for the performance of the experiments is deeply appreciated.

Furthermore, the author's thanks are due to the authorities of the Tokyo University of Fisheries for providing the experimental ponds and facilities available to him, and also he wishes to acknowledge his indebtedness to Mr. M. Inoue, Mr. A. Koike and to Mr. Z. Uematsu, the members of the University for all their helps in carrying out the experiment. He is grateful for advices given by Mr. M. Ishida of the Laboratory in regard to English expression of the paper.

Reference

V. BRANDT, A.: The efficiency of drift-nets, Jour. du Conseil **XXI** (1), 1955

天草増産に関する基礎的研究—VI. マクサ (*Gelidium amansii* Lmx.) の初期発生について

山　崎　　浩

(1959 年 10 月 26 日受理)

STUDIES ON THE PROPAGATION OF GELIDIACEOUS ALGAE—VI. ON THE EARLY DEVELOPMENT AND MORPHOGENY IN *GELIDIUM AMANSII* LMX.

Hiroshi Yamasaki*

In the present paper the author dealt with the details of the early stages in the development of the *Gelidium amansii* collected at Izu Peninsula, middle Japan. He found that:

1. The carpospore and the tetraspore germinate immediately after liberation, in the same type, or indirect germ-tube type.
2. The resting spore begins to sprout out a germ-tube in several hours after liberation, then the full contents of the spore move into the germ-tube (Pl. 1, 1～3).
3. The first division occurs with parallel or oblique plane to the longitudinal axis of the germ-tube producing the upper and the lower cell (Pl. 1, 4～5). The situation of the daughter cells occurred in such way has an important meaning in the process of the coming morphogeny.
4. The cell-group originated from the upper cell grow upto the creeping stem of the frond, and that originated from the lower one gives out the primary rhizoidal-cell in the beginning and then the erect main stem or creeping part of the frond later (Pl. 1, 6～11). The primary rhizoid appears from the apical cell originated from the lower cell-group about 38 hours after settling of the spore.

わが国におけるテングサ類の発生については，大野[1]，木下ら[2]，猪野[3]，殖田・片田[4]，高松[5]，片田[6]らによる研究がある。以上の観察結果によると，胞子にまず発芽管が生じ，胞子の内容物は全部この発芽管に移行する。これが基本細胞となり，次に細胞分裂が始まる。第1分裂の仕方について，大野は横分裂が最初だと考えていたようだが(図より)，その後片田は最初の分裂が極めて特異的で重要であり，基本細胞のゴシマ状の長軸にそつて現われると述べた。また片田は第1分裂によつて分れた両細胞を大細胞，小細胞といい，さらに分裂が進むにつれて，小細胞から起つた細胞塊にはすべて成長細胞が出現するが，大細胞による細胞塊には，まれに成長細胞が見られる程度で，見られない場合が多いと述べている。数個の細胞に分裂した後，まず1ケの仮根が生じ，分裂が進むにつれて多くの仮根が生ずることがその後の研究によつて確められている。また大野は発生がある程度進んでから所謂繭を形成し，その繭の所々からテングサの本体が生ずると述べたが，その後高松は最初の発芽体は必ず直立することを確めた。さらに片田は発芽体には直立型と匍匐型の2型式があることを述べ，その原因として発芽枝から側生枝が発生する迄までの間に何らかの外的条件によつて2つの型に分れるのであろうと推察した。

著者は伊豆産のマクサ，ヒラクサで果胞子と四分胞子の発生をしらべた。いずれの場合も両胞子では初期

* 静岡県水産試験場伊豆分場 (Izu Branch, Shizuoka Pref. Fish. Exper. St., Shimoda).

の発生様式は変らないことを確めたが，従来の観察と異つた二，三の点が見られたので，マクサについての結果をここに報告する。

はじめに，実験にあたつて種々御指導，御教示を載きまた御校閲を受けた東京大学農学部新崎盛敏博士に衷心により感謝する。また実験結果について御助言をいただいた東京水産大学木更津実習場片田実博士に，この研究の発表の機会を与えられた静岡県水産試験場安藤精治場長，同五十嵐正治分場長，実験に協力して載いた伊豆分場職員各位に厚く御礼申上げる。

実 験 方 法

材料は下田町白浜地先の水深 6～8 尋のところから午前中に採取し，海水を満したホーロー引きバケツに入れ，直射光線を避けて室内にもちかえり成熟葉体を選び海水で充分洗つたる後，清浄な海水を満したホーロー引きバットに浮べ，その下に附着材料を置いた。附着材料としては主にスライドグラスを，時にはナイロン等の化学繊維を用い，大体放出時刻[7] とマッチするようにおいて胞子を着生せしめた。胞子着生後は塵埃その他の附着物を良く洗い落してから別の 500～1000 cc 入りのビーカーに移して培養した。培養液は普通海水を沪過したもので別に栄養塩の添加などは行わず 7～10 日毎に換水した。夏期は高温になるのを避けるため周囲を水道水で流したり，または洞窟の中に収容して培養をつづけた。実験中の室内平均水温は Table 1 の通りであつた。培養器は直射光線のあたらない室内北側において培養をつづけた。発芽体の分裂様式の観察には生のまま，または 70% アルコールで固定後グリセリンで封じて行つた。

Table 1. Water temperature for culture (1958, 1959).

Month	Decade	Averaged water temp. °C
April	3rd	19.1
May	1st	20.4
	2nd	21.0
	3rd	22.7
June	2nd	22.9
	3rd	25.5
July	1st	25.8

実 験 結 果

四分胞子と果胞子とでは大きさ，形状など全く同一で，発生経過についても初期においてはほとんど相違がなかつた。胞子の直径は 27.5～31.6μ，平均 30.1μ で猪野・片田らの報告と一致している。胞子は円形で，ほぼ中央に 1 個の核が存在し，紅色の色素粒が周囲に散在している。胞子は放出数時間後に発芽をはじめ，まず胞子の周囲にある外膜が幾分ふくらみ，その一部に突起部となる大きな膨みを生じてくる (Plate 1-2)。この膨みがある程度突出してくると，つぎにその突出部の胞子の内容物が次第に突出し，移行をはじめる (Plate 1-3)。さらに数時間たつと原胞子の内容物はほとんど発芽管に移り，基本細胞を作る。原胞子内はほとんど透明となり，基本細胞との間に明瞭な隔膜を生ずる。15～20 時間経過する頃に第 1 分裂がはじまる (Plate 1-4, 5)。第 1 分裂については，前述のごとく片田は基本細胞の長軸にそつて現われるとしたが，著者の観察によると，長軸にそつて現われるものと一見横分裂のように見られるものとの 2 つが見られるが，これは本質的な問題ではないと考えられる。表面観が一見横分裂のごとく見られるものも Plate 1-4 のごとく，基本細胞が真水平に分裂しているものではなく，ほとんどがかなり長軸にそい，斜めに分裂している。従つて観察面を変えて見るならば，かなり長軸にそつて分裂していることが判る。1958 年 5 月に同一マクサ体の四分胞子を着生せしめたスライドグラスを冷蔵庫 (3～5°C) に入れて，約 20 時間後に観察したところコンマ状になるものが多く，このものではほとんど長軸にそつて分裂が行われていた。すなわち 117 発芽体のうち 69 ヶは明らかに長軸にそい分裂が行われていた。同じ材料を室温に置いたものでは 83 発芽体のうち 16 ヶのみが長軸に，他は基本細胞が割合真直ぐで一見横分裂のごとくみられた。以上のごとく基本細胞がコンマ状にまがつて生ずる場合は，明らかに分裂が長軸に沿つたごとく見られ，コンマ状にならず真直に突出した場合には横分裂のごとくに見られるものと思われる。しかしいずれの場合もその後の分裂にはたいした支障はきたしていないので，本質的には変りないものと思う。また片田は第 1 分裂によつて生じ

た2つの細胞を大細胞と小細胞とに分け，その後の分裂から見て極めて重要であると述べている。この点著者の観察も全く同様で，第1分裂の際，原胞子の殻のついた細胞（片田は大細胞と呼んでいる）から，その後の分裂によつて生じた細胞塊と，原胞子の殻のつかない細胞（小細胞）から起つた細胞塊とはかなり分裂が進んでからも明瞭に区分され，しかもこれらは第1次発芽体，側生枝とも重要な関係をもつている。大細胞が 3～4 細胞に分裂するころ，その最下部（原胞子と反対側）の細胞は色素のほとんどない細胞になり，これはその後仮根として伸長する (Plate 1-8, 9)。最初の仮根はほとんど大細胞塊から生じ，小細胞によるものを観察したことはなかつた。その後暫くの間は大・小細胞にもとずく細胞塊はほぼ同じ速度で分裂し，明瞭に両群を区分することができた (Plate 1-10)。つぎに小細胞塊の細胞が 10 ヶ位になる頃には，最下部の細胞の色素のないものが生じ，今度は小細胞塊から仮根が伸長してくる。またこの頃になると小細胞は色素のうすい成長細胞を生じ (Plate 1-10)，その後は小細胞塊の方が大細胞塊のものより極めて早く分裂を行い，どんどん伸長してゆく。しかもこの頃になつても大細胞塊と小細胞塊とは初期ほどでないが両者を区別することは可能である (Plate 1-11)。したがつてある時期までは Plate 2-3 のごとき形状で見られるものが多く，小細胞にもとずく細胞塊の分裂が盛んである。その後分裂が進むにつれて仮根は両細胞群から数多くでてくる。ところがここに重要なことは室内培養で約2カ月を経過するころになると，今まであまり分裂の行われなかつた大細胞にもとずく細胞塊が今度はどんどん伸長し初めることである。このものは先の小細胞塊のものより幅も広く伸長も早く，小細胞塊とは明瞭に区分できうる (Plate 2-9～12)。高松はマクサの芽胞体は決して成長して本体になることはなく，側枝が本体になることを観察した。また片田は室内培養のものでは約2カ月で大細胞塊は肥大して水平に拡り盤状になる場合が多いが，これはガラス板上の特殊な適応形態らしく，自然の海水では，側生芽が垂直方向に伸長する場合は幅広く葉状になり，第一次の発芽枝を凌駕して旺盛に成長すると述べている。著者の室内実験によればスライドグラス上でも壟を形成することはなく，ほとんどは第一次発芽枝（小細胞塊によるもの）がある程度伸長すると今度は側生枝（大細胞塊によるもの）が垂直的であろうが水平的であろうが著しく伸長し初めてくる。これらの結果からすれば著者もまた高松や片田の述べているごとく，最初の発芽体は本体になるのではなく，側生枝が本体になるものと考えるし，壟を形成することは附着器がガラスということではなく，環境条件の不良にもとずくものと思われる。しかも本体になる細胞塊は最初の第1分裂において原胞子の殻をつけていた方の細胞で所謂大細胞と名づけられたものにもとずいている。しかし中には大・小胞細塊が最初から同じ速度で分裂，成長し二叉をなしたごときものも見られたし，第一次発芽枝のみが著しく長く伸長し，側生枝がかなり遅れて成長してきた場合もあつた。これらの点が片田のいう直立型と匍匐型と深い関係をもつものと思われるので，この点現在天然のものとも比較検討しているので後日報告したい。

要　　約

マクサ (*G. amansii* Lmx.) の初期発生の様式を静岡県下田町白浜で調べて次の結果をえた。

1)　マクサの四分胞子と果胞子とでは初期の発生様式にはほとんど変りがない。

2)　胞子は着生後数時間で発芽管をだし始め (Plate 1-2, 3)，原胞子の内容物はこれに移行して基本細胞を作る (Plate 3-2)。

3)　約 20 時間後に第1分裂が始まる (Plate 1-4, 5)。第1分裂によつて生じた細胞は片田のいうごとくきわめて重要な意義をもつている。原胞子の空殻をもつたもの（大細胞という）としからざるもの（小細胞という）とはその後も別々に分裂し，それぞれが 10 細胞になるころまでは同じ速度で分裂するが，それ以後は成長に著しい変化が見られる。

4)　仮根はまず大細胞が4個の細胞に分裂する頃に，発芽管のでた方向に生じてくる (Plate 1-10)。それ以後は分裂が進むにつれて，小細胞塊と，大細胞塊とをとわず多くの仮根が生じてくる。

5)　発芽がはじまつて2日位経過すると小細胞塊の先端に成長細胞を生じ，それ以後はこの細胞塊の伸長が急激に早くなる (Plate 1-11)。しかしこの小細胞塊の伸長がある程度進むと，今度は大細胞塊が急に伸長

しはじめる。このものは最初のものより伸長も早く，草体の幅も広く，後にテングサの本体に成長するものと思われる (Plate 2-9〜12)。

参 考 文 献

1) 大野磯吉: 発生上より見たる石花菜の蕃殖について（謄写刷），1927.
2) 木下虎一郎・外2名: 北水試事業旬報，300，301 (1935，'36).
3) 猪野俊平: 植物および動物，**9** (6)，877〜880 (1941).
4) 殖田三郎・片田　実: 本誌，**11** (5，6)，175〜178 (1943).
5) 高松正彦: 資源研彙報，**6**，55〜62 (1944).
6) 片田　実: 第二水講研報，**5** (1)，(1955).
7) 山崎　浩: 静水試伊豆分研報，**8**，(1959).

Plate 1. Various stages in early development of *G. amansii* LMX.

1. Fixed spore.
2, 3. Pushing out a germ tube, 3-5 hours after being fixed.
4, 5. First division, 20 hrs.
6, 7. Second division, 24 hrs.
8. Third division, 28 hrs.
9. The development of primary rhizoid (*r*), 35 hrs.
10. The young sporeling after 2 days culture, a shows apical cell. (*a*)
11. Showing remarkable growth of the first sporeling, 3 days.

Plate 2. The young sporeling of *G. amansii* LMX.

1, 2. The young sporeling cultured for 2 days.
3〜5. The same for 15 days in still water.
6〜8. Growing of the first sporeling, cultured for 34 days.
9〜12. Sprout out of the second sporeling, cultured for 60 days.
f····first sporeling, *s*····second sporeling.

Plate 3. Photograph of the germination of *G. amansii* LMX.

1, 2. Pushing out a germ tube.
3. The form of division after 2 days culture.
a····apicall cell.
4, 5. The young sporeling cultured for 4 days.
6. The same for 36 days.
7. The same for 60 days, sprout out of the second sporeling.
f····first sporeling, *s*····second sporeling.

Plate 1.



Plate 2.

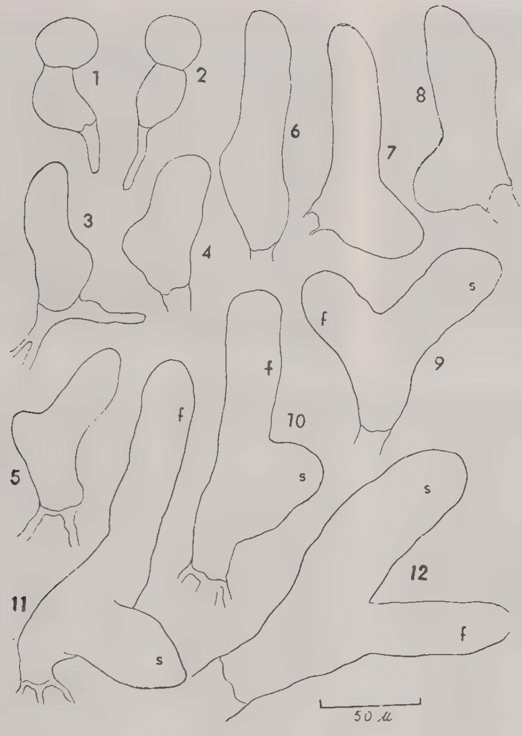


Plate 3.



コイとフナの雑種 (F_1) の脳下垂体について

本　間　義　治

(1959 年 11 月 10 日受理)

THE MORPHOLOGY OF THE PITUITARY GLAND OF CARP-FUNA HYBRIDS.

Yoshiharu HONMA*

The external morphology and the histology of the pituitary gland of the cyprinid fishes, carp (*Cyprinus carpio*) and funa (*Carassius carassius*), and the male carp-funa hybrids is described.

1. The pituitary of the carp is of caudo-lepto-basic type. The pituitary stalk enters the gland posteriorly and extends craniad. The glandular lobes of the pituitary, i. e., pars tuberalis, pars principalis, and pars intermedia, lie parallel to each other and obliquely to the body axis. The pars tuberalis is composed predominantly of acidophiles; the pars principalis of basophiles (cyanophiles), and abundant chromophobes are found in the pars intermedia.

2. The pituitary of the funa is of dorso-platy-basic type. The pituitary stalk enters the gland dorsally and extends ventrad. The glandular lobes are disposed parallel to each other and lie in the horizontal plane. The pars tuberalis is composed chiefly of acidophiles; the pars principalis of basophiles, and the pars intermedia of weak basophiles. In the pars principalis, many orange acidophiles may be recognized.

3. The pituitary of the carp-funa hybrids shows a condition intermediate between those of the parent species. The pituitary stalk penetrates into the gland obliquely from the dorso-caudal angle and extends ventro-craniad. The shape of the pituitary of the hybrid fish is rather similar to that of the funa, as is the arrangement of the glandular lobes which lie almost parallel to the horizontal plane. The pars tuberalis is composed of acidophiles; the pars principalis of basophiles, and the pars intermedia of weak basophiles. In the pars principalis there are no carmine acidophiles, although these are constantly seen in the pars principalis of each parent.

It seems that the pituitary of carp-funa hybrids is more or less intermediate between those of the parents, although there are some peculiarities.

は し が き

コイ *Cyprinus carpio* L. とフナ *Carassius carassius* L. という異属間の交雑は，相互交配ともに容易に正常な雑種ができる。そして雑種の♂が不妊であることや，染色体数，口鬚，側線鱗数，咽頭歯数とその排列，ビタミンAの含有量，細胞核内の DNA 量・蛋白量，肝・膵臓の形態などが，両種の中間の状態を示すことが知られている。(松井，'33，'50[1]；　松井・牧野，'43；　牧野，'39，'41；松井・牧野・小島，'56；牧野・小島・松井，'55，'58[2]；　小島，'57 など。)

脳下垂垂体についても，コイとフナとでは外形，組織，各腺葉や神経葉の配置などに著しい差異がみられ明瞭に区別できる。(STENDELL，'14[3]；　SCRUGGS，'39[4]，'51。) それで，コイとフナの雑種の下垂体がどのような発育状態にあるかを調べることは，単に雑種の形質に関する従来の知見に新しい資料を加えるだけに留まらず，比較解剖学の立場からいつても大変興味深い問題と考える。

---

* 新潟大学理学部生物学教室 (Dept. Biol., Fac. Sci., Niigata Univ., Niigata, Japan.).

私は，魚類の脳下垂体—甲状腺系について分析を進めており，コイ科魚類についても従来の報告を再検討するために観察した。(本間，'57[5]，'58 a[6]，b[7]，'59[8]。) このたび，日本真珠研究所長の松井佳一博士並びに関西学院大学の小島吉雄博士の御好意により，コイとフナの雑種の下垂体について調べる機会をえたので，その結果を報告したい。研究材料を御恵贈下さつた上記両博士に心から感謝の意を表する。

材料および方法

コイとフナの雑種（ゲンゴロウブナ♀×マゴイ♂の F_1♂）の材料は，小島が不妊について細胞学的な研究をいただき，1957 年 5 [illegible]に精巣を検出した魚体から頭部を切り，Bouin 氏液で固定したものを用いた。これらは兵庫県水産試験場山田養魚場に数年前から飼育されていたものである。そして 8μ のパラヒン切片を作り，Azan の三重染色によつて鏡検した。なお同様にしてほぼ同大のマゴイ，マルブナ，ヒブナの 3 年魚を比較対照のために観察した。

観察結果

コイとフナの下垂体については，すでに Stendell ('14)[3], Bell ('38)[9], Scruggs ('39[4], '51) によつて記載され，私も簡単に触れたが (本間，'57 a[5], b)，本報でも私の材料に基づいて，上記両種ついで雑種の下垂体の外部形態と組織像につき，それぞれ簡単に述べておきたい。

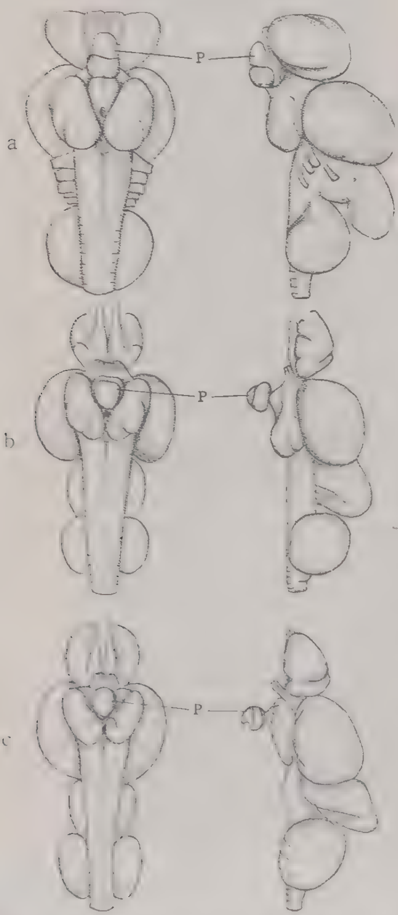


Fig. 1. General morphology of pituitary gland (× 2).
a. carp; b. funa; c. carp funa hybrid F_1. Left, ventral view; Right, side view)

コ イ

外 形: 本種の下垂体は，少し縦扁した椎の実型のものが多く，あたかも長目の心臓のような形で大きい。そして広い漏斗から比較的鋭い三角状の下垂体索によつて吊下つており，尖端部（=中葉部）がもつとも頭端すなわち視束交叉部にあり，それと平行している。しかし漏斗陥凹は決して深くなく，本種の下垂体索はきれ易い。下垂体の中央位にはくびれがあり，前葉（隆起葉と主葉）と中葉を分けている。すなわちコイの下垂体型は caudo-lepto-basic に属するもので，下垂体索の侵入は後方から前方へ向つている。そして神経葉は独自な大部とならず，太い神経幹として各腺状部を走り，周辺へその分枝を良く侵入させている。つぎに，本種下垂体の隆起葉は，下垂体の背方に屋根状に位置し，下垂体索，視床下部，視束交叉部の辺に拡がつた板状の浅層である。主葉は，隆起葉の下方から頭方にわたる広い中軸の部分を占め，中葉は先述のようにもつとも尖端の頭方部に位置している。このように，各腺葉は斜めから垂直の方向に平行状態にある。なお，下垂体の後方で両下葉の膨部が接する付近に小さい長卵形の血管嚢がある (Fig. 1a, Fig. 2a)。

組 織: まず隆起葉には，やや小形で細胞質に乏しい多角状の酸好性細胞が密集している。核の大きさや形は不定であるが，核質が橙色に染まり，中にはかなりカーミンを取るものもある。主葉は，大形多角状で細胞質の豊富な青色（塩基）好性[illegible]な部分で，[illegible]の中へ[illegible]の多角形のカーミン（[illegible]）好性[illegible]，[illegible]ないしは[illegible]状に随所に塊まつている。[illegible]，[illegible]の一[illegible]に存在し，神経管の付近に少くて隆起葉の辺に多くみられることである。中葉

の尖端部には，やや小形で細胞質に乏しい多角状の色素非好性細胞が多量に存在している。そして主葉との境界には，これと同形状の酸好性細胞が，神経葉を取囲みながら塊まつている。また，中葉は細網繊維によつて多数の cyst に分けられている。

フ　ナ

外　形：本種の下垂体は，ダルマ型に近い心臓型で，前葉と中葉との間にみられる体軸に平行なくびれが非常に明瞭である。2年魚の下垂体はまだ縦扁した卵形であるが，3年魚では著しく高さを増して膨大化してくる。下垂体索は，下垂体の背面中央位よりわずかに後方から入つており，短かく太くしかも漏斗陥凹も浅いので，本種の下垂体型は dorso-platy-basic に分類される。漏斗は三角状に膨化して大きいが，下垂体に覆われて，血管嚢とともに腹面からではみることができない。神経葉は大部とならず，太い神経幹として前葉を通過し，中葉の中に良く分岐している (Fig. 1b)。

各腺葉の配置について述べると，まず隆起葉は下垂体索の侵入点より前方の下垂体背面を占める浅層で，本葉の下方の中軸部は広大な主葉となつている。主葉の下方すなわち下垂体の腹面の大部は中葉であり，前葉とは明瞭なくびれによつて区別できる。このように，コイとフナの下垂体は，外部形態のみならず，下垂体索の侵入方向や，腺葉の配置によつて容易に区別することができる (Fig. 2b)。

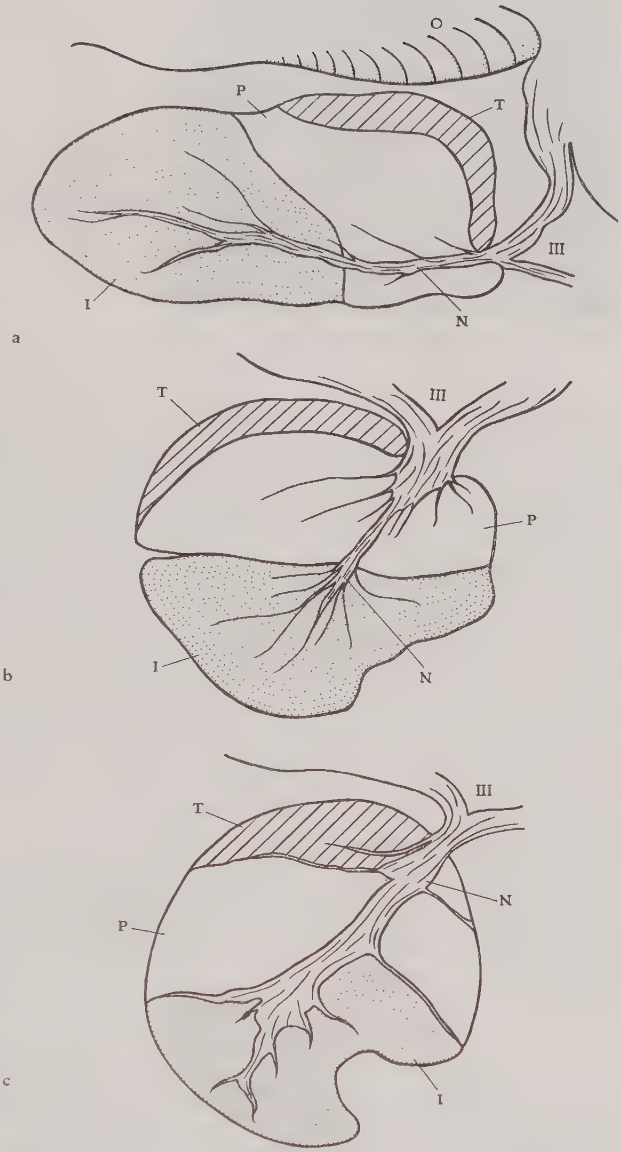


Fig. 2. Diagrams of pituitary in median sagittal section (× 15).
a. carp; b. funa; c. carp-funa hybrid (F_1).
T. Pars tuberalis; P. Pars principalis; I. Pars intermedia; N. Pars nervosa; O. Optic chiasma; III. Third ventricle.

組　織：隆起部には，中等大で円味のある橙色の酸好性細胞が敷石状に密集しているが，同形状の色素非好性細胞も随所にみられ，青色好性細胞も少数散在している。主葉は大きな多角状の青色ならびに強青色細胞が優勢な部分であるが，同形状の酸好性ならびに強酸好性細胞も小塊となつて，群がつている。これら色素好性細胞は，いずれも顆粒に富み，細胞の一隅に円形の核が局在していることが特徴である。また神経幹の基部には，これを取囲んで小形の細胞質に乏しい色素非好性に近い細胞が壁を作つている。中葉は，小形で明るい弱青色好性系の細胞に富み，さらに小さい酸好性細胞も随所にみられる。そして，主葉との境界にはやや

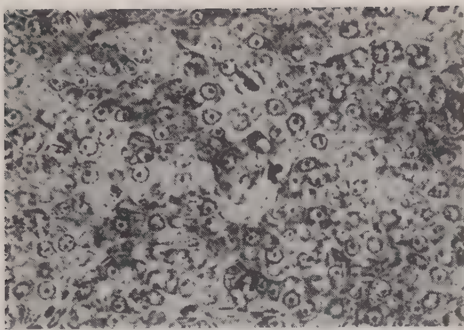


Fig. 3. Photomicrograph of section of principal part of carp-funa hybrid pituitary (× 300).

大きい，比較的細胞質にも富んだ橙色の細胞が塊つている。いずれにしても，フナの下垂体はコイより鮮かな色調に染まり，その主葉に橙色の酸好性細胞が豊富に存在する点で，コイのそれと相違している。

雑　種 (F_1)

外 形: 雑種の下垂体は，非常に奇妙な形をしている。大略は球状で，フナの下垂体に少し似ているが，前葉と中葉との間のくびれの他に，隆起葉と主葉の間もくびれており，これらの溝が互いに平行している。しかし，このくびれは，フナの大形魚のように，下垂体をダルマ型にくびらすほどひどくない。中葉部には大きな凹所が背方にあり，中葉の後端が鈍い鎌状となつて突出しているので注目される。下垂体全体はいじけて小さい感じをもたせる。下垂体索は，下垂体の背面と後方との中間辺から斜めに侵入しており，神経葉は太い神経幹として前葉に多少分枝をだし，中葉においては，神経膠質も発達して顆粒状である。また両下葉の接合部には，小さい血管嚢がみえる。

切片で観察すると，隆起葉はもつとも背方に位置した板状部で，その下に広大な主葉があり，もつとも腹方には，大きな湾入部をもつた中葉が斜め腹方に突出しているのがみられる。このように，雑種の下垂体は形状が奇異であるものの，下垂体索の侵入方向はもちろん腺葉の配置状態も，まずコイとフナの中間型を示しているといえよう。(Fig. 1c, Fig. 2c)

組 織: まず隆起葉は，比較的大きい橙色の酸好性細胞が敷石状に密集した部分であり，核は細胞の中央に位置している。そして神経幹の周囲には，色素非好性に近い弱青色好性細胞が塊まつている。一般に隆起葉と主葉との境界部は，橙色の細胞が移行し合つており，しかも隆起葉の中にも青色好性細胞が散在しているので，両葉の区別はフナのように明確でない。主葉には，大形多角状の強青色好性ならびに青色好性細胞が適度に混在していて，排列に一定の規準が認められない。これらの細胞の核は局在しており，また強青色好性細胞の細胞質中に透明の小胞がみられることがある。円形状の橙色の酸好性細胞は，これら両青色細胞群中に，小塊となつて散在している。中葉は，細胞質に乏しいしたがつて小さい弱青色好性細胞が，索状に連なつて複雑にひだうつたものからなる。主葉との接触部すなわちくびれの部分には，やや小形の橙色酸好性細胞が板状に塊まつている。このように，コイとフナの雑種の下垂体は，細胞の輪廓が非常に明瞭であるが，主葉にはカーミン好性細胞がみられず，また隆起葉と主葉との区別が容易でない。(Fig. 3)

考　　察

コイとフナの下垂体は，古くから研究の対象とされ，その形態や構造は STENDELL, '14[3]; CHARIPPER, '37; BELL, '38[9]; SCRUGGS, '39[4], '51 らによつて詳細に記載されている。しかし彼らの間には，両種の下垂体腺状部の名称について一致がみられず，他の高等脊椎動物にない独自な部分として STENDELL が提唱した übergangsteil（移行葉）を認める者が多かつた。しかし，移行葉がより高等な動物の主葉に相当するものであることについては，私が再三指摘した。(本間，'57 a[5], b; '58 a[6], b[7]。) 今回私が観察した材料でもコイ・フナの下垂体は隆起葉，主葉，中葉，神経葉の4要素から構成されていることが明らかである。両種の雑種（F_1）の下垂体も4構成要素からなるが，中葉部の形状が特異であつたことや，全体がいじけて小さい感じをもたせる点に発達の異常がうかがえる。

コイの下垂体型は，caudo-lepto-basic に属すため，腺葉や神経葉の配置も同型のナガズカ *Stichaeus grigorjewi* に似ていた。(本間，'57 b。) 一方フナのそれは，dorso-platy-basic に属すため，外観のみならず，下垂体索の侵入方向や腺葉の配置がコイと著しく相違していた。ところで，雑種下垂体においては，下垂体索の侵入点や方向が両種の中間であつたが，各腺葉の配置状態はフナに近いふしがある。

つぎに細胞組織について述べると，隆起葉と中葉については，コイ，フナ，雑種の3者間に大差が認められない。しかし雑種の主葉は両親であるコイおよびフナより一層明確な輪廓をもつた細胞からなるのに，カーミン好性細胞を欠いていたので興味深い。これらのことが，どのような理由によつているのかについては今後他の雑種を含むもつと沢山の材料について究明したい。

いずれにしても，コイとフナの雑種の下垂体は，かなりの特異性を示しているが，まず両親のそれの中間の状態をとるように発達を遂げたものであろう。それゆえに，従来の松井・牧野・小島の諸報告に，さらに同系列の資料を加えることになろう。雑種下垂体の分泌活動の季節的変化や，甲状腺の形態と活動などについては，さらに分析を進める予定である。

要　　約

コイとフナおよびそれらの雑種 F_1 (♂) の下垂体の外部形態や組織像を観察して，つぎのような結果をえた。

1. コイの下垂体は，caudo-lepto-basic 型で，下垂体索は後方から入り前方へ向い，各腺葉は斜めの方向に平行して配置されている。隆起葉は酸好性，主葉は青色好性，中葉は色素非好性の細胞が優勢である。

2. フナの下垂体は，dorso-platy-basic 型で，下垂体索は背面の中央辺から入り腹方へ向い，各腺葉は水平の方向に平行して配置されている。隆起葉は酸好性，主葉は青色好性，中葉は弱青色好性細胞が優勢であるが，主葉は橙色の酸好性細胞にも富む。

3. 雑種の下垂体型は，コイとフナの中間の状態を示し，下垂体索は背面の後方から入り腹面の前方へ達する。外形はわずかにフナに似ているが，各腺葉の配置も少し似ており，3葉はほぼ水平方向に平行してならんでいる。隆起葉は酸好性，主葉は青色好性，中葉は弱青色好性の細胞からなるが，主葉はカーミン好性細胞に欠ける。

コイとフナの雑種の下垂体は，かなりの特異性を示しているが，まず両親の中間の状態へと発達を遂げたらしい。

文　　献

1) 松井佳一：現代生物学の諸問題，152 (1950)，京都.
2) MAKINO, S., Y. OJIMA and Y. MATSUI: *Nucleus*, **I**, 153 (1958).
3) STENDELL, W.: OPPEL's *Lehrb. vergl. mikroskop. Anat.*, **8**, 1 (1914).
4) SCRUGGS, W. M.: *J. Morph.*, **65**, 187 (1939).
5) 本間義治：魚雑，**5**，175 (1957).
6) ――――：魚雑，**7**，109 (1958).
7) ――――：*J. Fac. Sci., Niigata Univ.*, Ser. II, **2**, 189 (1958).
8) ――――：本誌，**25**，620 (1959),
9) BELL, W. R.: *Zoologica*, **23**, 219 (1938).

食品の鮮度測定法に関する研究—XII.
揮発性還元物質 (VRS) の分画

富山哲夫・池浦一也

(1959 年 9 月 1 日受理)

STUDIES ON THE METHODS FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—XII.
FRACTIONATION OF VOLATILE REDUCING SUBSTANCES (VRS) WITH ION-EXCHANGER

Tetuo Tomiyama and Kazuya Ikeura*

A study was made to ascertain a finding in the previous paper[1] that showed a marked increase in neutral substances at incipient spoilage. A fractionation with Amberlite IRC 50 and IRA 400 was carried out of VRS in steam distillates obtained from a deproteinized extract of mackerel flesh whose pH's were adjusted to 2.0, 6.0 and 9.3 before the distillation.

Data given in Table 1, 2 and 3 clearly indicate that VRS which are distilled off at pH 6.0 are contaminated with basic substances and appreciably increase with a slight rise of pH of the sample extract. The fractionation into acidic, basic and neutral VRS with ion-exchanger resulted in a fairly good conformity with respective VRS values obtained by the steam distillation (Table 5). Fig. 1 illustrates the change in volatiles of mackerel flesh stored at 6～10°C. It is clearly seen that the basic VRS increases after 1-day storage and nearly stops its increase at 3 to 4 day storage while the neutral VRS increases after 2-day storage and continues to increase up to 4-day storage at least.

著者等は前報[1]でサバ肉の除蛋白抽出液を酸性，中性およびアルカリ性で水蒸気蒸留した時に留出する VRS を個々に定量し，鮮度低下との関係を追跡した。この条件では鮮度低下の初期に中性および塩基性 VRS は著るしく増加するが，酸性 VRS の増加は僅かであり，また中性 VRS の量は塩基性 VRS の量に近いことを報告した。

VRS のうちで酸性および塩基性区分については従来研究されているが，中性区分の分画は試みられていないので，本研究では留出物をイオン交換樹脂によつて VRS を中性，酸性および塩基性物質に分画してみた。また各区分の VRS と鮮度低下との関係を検討してみたところ，前報の結果と類似の傾向がえられたので，ここに報告する。

研究材料および方法

1. 研究材料

供試肉は市場より求めた新鮮なサバから採つたもので，肉挽器に 2 回かけ，これを数個のポリエチレンの袋に入れて冷蔵庫 (6～10°C) に貯蔵した。この期間の鮮度低下の測定には毎回 1 個の袋に入れたものだけを使用した。

2. 分画法

a，蒸留法による分画： 前報[1]に報告したように，(1) pH 6.0 で水蒸気蒸留した中性 VRS N を求め，(2) pH 9.3 で蒸留した VRS $B+N$ から，N を差引いて塩基性 VRS B を求め，(3) pH 2.0 で蒸留した

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka).

VRS $A+N$ から N を差し引いて酸性 VRS A を求める。

b. イオン交換樹脂による分画: 塩基性物質の分離: ―供試肉 5g 相当量の除蛋白抽出液を pH 9.3 で水蒸気蒸留した液 50cc のうち 25cc を内径 8.5mm のガラス管につめた約 2cc の Amberlite IRC 50 (H 型) に通すと，中性物質は通過し，塩基性物質は吸着される。樹脂は蒸留水で洗滌した後，15cc の 1N 硫酸を通して塩基性物質を脱着させ，20cc の蒸留水で洗滌する。この硫酸による脱着率は Table 1 にみられるように完全である。全体を 50cc に蒸留水で充した後，10cc 0.1N $KMnO_4$ と 10cc 20% NaOH とを加え，定量法[1] にしたがつて VRS を求める。酸性物質の分離: ―pH 2.0 で水蒸気蒸留した時の留出液 50cc のうち 25cc を約 2cc の Amberlite IRA 400 (OH 型) に通すと，酸性物質のアニオンと OH^- とが交換する。つぎに蒸留水で洗滌してから 1N 硫酸の 15cc で脱着し，さらに蒸留水で洗滌して 50cc とし，VRS を求める。なおこの条件での脱着率は満足すべきものである (Table 1)。中性物質の分離: ―Amberlite IRC 50 あるいは IRA 400 を通過した中性区分は蒸留水で 50cc とした後，VRS を求める。なお中性で蒸留した区分に中性物質以外のものが混在するかを検討するには，IRC 50 を通し，つぎに IRA 400 を通過させてから VRS を求める。

Table 1. Elution of VRS with 1N H_2SO_4 from Amberlite IRC 50 and IRA 400.

	Eluate* from IRC 50			Eluate* from IRA 400			
	1st. fract.	2nd. fract.	3rd. fract.	1st. fract.	2nd. fract.	3rd. fract.	4th. fract.
VRS, μe/g.	40	2.0	0.1	13	8.6	0	0.4
Recovery (%)	95	4.8	0.2	59	39	0	2

* 5cc. each fraction.

研究結果および考察

1. 抽出液の pH を変えて蒸留した場合の中性 VRS の変動

中性の VRS を定量するために，抽出液の pH を中性附近に調節して蒸留したところ，しばしば同一試料が一定の $KMnO_4$ の消費量を示さなかつた。これは抽出液の pH の調整の程度によつて起るのではないかと推察されたので，pH を 6 から 7.5 まで調整した抽出液を水蒸気蒸留して VRS を定量してみた。Table 2 に示すように，pH が 6 より僅か増加すると，VRS 値が増加し，pH 7.5 でかなり大きな値を示した。この原因として考えられることは，蒸留中に CO_2 が失われて pH が上昇し塩基性物質が一部留出する可能性があり，また塩基性物質が酸性においても留出する可能性もある。Table 3 に示した結果は明らかに後者の可能性が正しいことを示している。さらにトリメチルアミン (TMA) を pH 5.5〜7.0 の範囲で水蒸気蒸留したところ，45〜58% 留出することが分つた。なお pH 9.3 で蒸

Table 2. Change in neutral VRS with pH variation between 6.0 and 7.5.

pH	Days of storage of minced mackerel flesh					
	0	1	2	3	4	5
6.0	9.0	2.8	21.4	108	107	124
6.5			25.4	111	135	138
7.0			43.4	120	149	167
7.5	7.6*	12.0	62*	134	156	156

* distilled at pH 7.3.

Table 3. Effect of pH on distillation of neutral and basic VRS and of trimethylamine.

pH value			VRS, μe/g.		TMA	
initialliy adjusted	diluted*	after distil.	neutral	basic	cc. 0.05N KHI_2O_6 per 25cc§	% recovery
5.50	5.76	5.78	27	6.0	1.33	45
6.00	6.14	6.17	31	16	1.44	48
6.50	6.69	6.53	31	24	1.66	56
7.00	7.18	6.92	36	33	1.74	58
9.30					2.92	98

* Since the volume of sample after the distillation increased to 38cc., the change in pH value during the distillation was rechecked on diluting each sample to 38cc.

§ A 25-cc. aliquot of sample contains 1.125mg. trimethylamine hydrochloride.

留すると，TMA は 98% 定量できた。TMA の還元当量価を計算すると，1.125 mg TMA−HCl を含む 50 cc は 2.98 cc 0.05 N KHI_2O_6 に相当する $KMnO_4$ を消費したので1分子当り 12.6 当量となる。もし TMA の酸化が (1) 式に示す反応にしたがえば，1分子当り 12 当量となるので，本定量法[1] の条件では TMA は (1) 式にしたがつて酸化されるに違いない。また TMA の既知量と還元当量

$$N \equiv (CH_3)_3 + 6O = 3\,CO + 3\,H_2O + NH_3 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

との関係は 0.05 N KHI_2O_6 の滴定値 3.5 cc までは正比例することが分つた (Table 4)。

Table 4. Relationship between amount of trimethylamine hydrochloride and $KMnO_4$ consumed.

TMA–HCl (mg./50 cc.)	0.05 N $KMnO_4$
0.15	0.45
0.30	0.81
0.45	1.24
0.60	1.54
0.75	1.96
0.90	2.25
0.975	2.48
1.05	2.68
1.125	2.90
1.20	3.09
1.275	3.25
1.35	3.36
1.50	3.79
1.65	3.93
1.80	4.19
1.95	4.33
2.10	4.60
2.25	4.85

Table 5. Fractionation of acidic, basic and neutral VRS by employing ion-exchangers.

pH of sample when distilled	Property of volatiles	No. of sample*	VRS fractionated by treatment with Amderite IRC 50: effluent	Amderite IRC 50: eluate	Amberlite IRA 400: effluent	Amberlite IRA 400: eluate	by distillation
2.0	acidic	1				8.4	−5.4
		2				8.0	4.3
	neutral	1	11		2.6		16
		2	53		54		59
9.3	basic	1		35			28
		2		52			48
6.0	acidic	1				3.4	
		2				0	
	basic	1		8.0			
		2		11			
	neutral	1			4.8**		
		2			46**		

* Sample 1: mackerel flesh extract, 2-day storage at 6∼10°C; Sample 2: the same as sample 1 except 3-day storage.
** VRS determined on effluent resulted from passing Amberlite IRC 50 and IRA 400 successively.

2. イオン交換樹脂による VRS の分画

除蛋白抽出液の pH を 2.0, 6.0 および 9.3 に調節した後，水蒸気蒸留した酸性 + 中性区分 ($A+N$)，中性区分 N および塩基 + 中性区分 ($B+N$) を Amberlite IRC 50 および IRA 400 によつて研究方法の項に記述した方法で分画した。Table 5 に示した結果は中性区分には塩基性物質が混在することを示し，またイオン交換樹脂により分画した各種の VRS の値が蒸留法で分画し計算により求めた値と比較的によく一致したことを示しており，蒸留法でえられた前報の結果は再確認されたといえる。

3. サバ肉を低温に放置した時の酸性，中性および塩基性 VRS の変化

細砕したサバ肉を 6~10°C に放置した時の各種 VRS を蒸留法およびイオン交換樹脂法で分画定量した結果は Fig. 1 に示してある。中性の VRS が2日から4日まで直線的に増加している点を除けば，他の VRS の変化は前報の結果と大体近似している。

この図から明らかなように，蒸留法の値の変化はイオン交換樹脂法の値の変化と平行している。塩基性物質は2日後に急激に増加するが，3日以後の増加率は小さかつた。これに対し中性物質は2日までは増加しないが，3日後には急激に増加し，4日後まで増加率は減少しなかつた。酸性物質はこの蒸留条件においては微量であり，4日後に僅かに増加したに過ぎない。

前報で提出した著者等の VRS の定量法によつてえられる値は塩基性物質と中性物質との合量であるから Fig. 1 にみられるように，2日後に急増し，直線的に増加するのが一般である。他方，STROHECKER 法[2] あるいは FARBER 法[3] では試料肉そのものあるいはその圧搾汁を試料として蒸留あるいは通気しているの

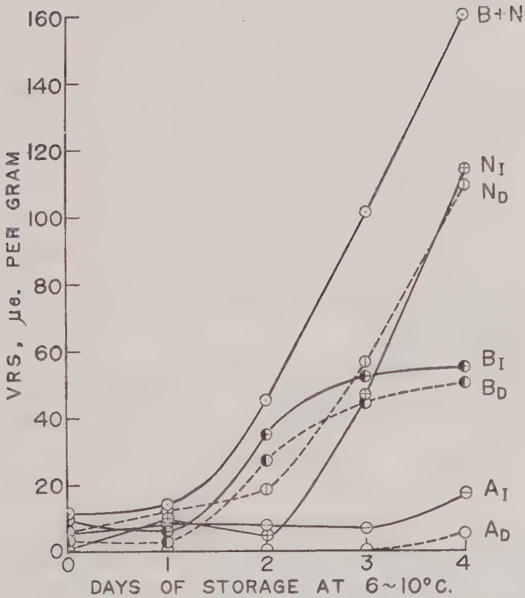


Fig. 1. Change in acidic, basic and neutral VRS of the extract of minced mackerel flesh stored at 6~10°C. A: acidic VRS. B: basic VRS. N: neutral VRS. B+N: VRS distilled off at pH 9.3. Suffix I and D denote each fraction obtained with the ion exchanger and the distillation, respectively.

で，主として中性物質を定量しているわけである。したがつてもしこの実験の試料をこれらの方法で定量すると，VRS は3日後に急増するはずである。しかしこれらの方法においては試料の pH を一定に調整することなしに定量しているので，腐敗の初期に pH が上昇する試料では中性物質の他に塩基性物質の一部をもあわせ定量することになる。このことは VRS 値が初期腐敗時に急激に増加を示す一つの理由であろう。STROHECKER 等[2]の VRS 定量値と試料の pH との関係をみると，pH が僅かに増加すれば VRS が著るしく増加することがよく示されている。FARBER 等[4]は缶詰魚肉の品質は VRS の値によつて最もよく表現できると報告しているが，これは原料肉の鮮度によつて中性物質の量が異なるだけでなく，缶詰にした場合の pH が僅かでも移動すると，VRS 値に塩基性物質が加わつて缶詰肉の品質の差異を大きく表現するものと推察される。

総　　括

1. 中性物質の蒸留に当つて試料抽出液の pH を6から7に変えると，中性物質の値が著るしく大きくなる。この増加は塩基性物質の一部がこの pH 範囲で留出するためである。

2. TMA は pH 5.5~6.5 の酸性においても 45~56% 留出した。TMA の還元当量は1分子当り12当量であり，本定量法の条件では 0.05N KHI_2O_6 の滴定値が 3.5cc までは滴定値と TMA との間には直線的関係が成立する。

3. イオン交換樹脂法で分画した値からみると，蒸留法で分画した値に大きな誤りのないことが分つた。

4. サバ肉を 6~10°C に放置した場合に生ずる VRS の変化をイオン交換樹脂法および蒸留法で追跡したところ，塩基性物質は中性物質より1日早く増加するが，3日以後はほとんど増加しないのに対し中性物質は2日より3日にかけて急激に増加し，以後は直線的に増加を続ける。酸性物質はこの条件では4日後に僅かに増加したに過ぎない。

5. STROHECKER 法および FARBER 法では，主として中性物質を定量していることが分つたが，鮮度低下とともに試料の pH が増加するので，初期腐敗時以後は中性物質だけでなく塩基性物質も VRS 値に入つてくるものと推論した。

本研究を遂行するに当つては，藤野清也氏の助力ならびに津田　厚氏の助言を受けた。ここに謝意を表する。

文　　献

1) 富山哲夫・池浦一也・大山重信：本誌，**26**，33 (1959).
2) STROHECKER, R., VAUBEL, R. and H. KIRCHBERG: *Z. anal. Chem.*, **110**, 1 (1937).
3) LANG, O.W., FARBER, L., BECK, C. and F. ZERMAN: *Ind. Eng. Chem.*, Anal. Ed., **16**, 490 (1994). FARBER, L.: *Food Technol.*, **3**, 300 (1949); *ibid.*, **6**, 319 (1952).
4) FARBER, L.: *Food Technol.*, **10**, 303 (1956).

食品の鮮度測定法に関する研究—XIV.
水蒸気蒸留法による VRS の定量法の比較並びに定量される VRS の性質

富山哲夫・池浦一也・藤野清也

(1959 年 11 月 11 日受理)

STUDIES ON THE METHOD FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—XIV.
ON NATURE OF VOLATILE REDUCING SUBSTANCES (VRS) DETERMINED BY STROHECKER METHOD

Tetuo TOMIYAMA, Kazuya IKEURA and Seiya FUJINO*

TOMIYAMA and IKEURA[2] made it clear that both basic and neutral substances are involved in VRS value obtained by their method[1]. The present paper deals with how much VRS and whether basic or neutral VRS can be oxidized by the STROHECKER method[3] which employs an acidic solution of permanganate as contrasted to an alkaline solution in the TOMIYAMA et al's method[1]. A study has also been carried out of the efficiency of ion-exchanger in separating basic VRS from neutral one. Data presented in Tables 1 and 2 indicate that only free basic VRS can be adsorbed quantitatively on Amberlite IRC–50 and that the salt of basic VRS shall be separated with Dowex 50. Data given in Table 4 show that the extent of oxidation of both neutral and basic VRS according to the STROHECKER's procedure[3] is relatively small when compared with that by the TOMIYAMA et al's method[1]. It is noted that a modified STROHECKER's procedure proposed by TOMIYASU et al[4] gives a comparable value with that by the original procedure in case of the neutral substances, while higher value in case of the basic ones.

富山等の揮発性還元物質 (VRS) の定量法[1] によつて求められる VRS の値には中性物質並びに塩基性物質が包含されることを前報[2] において報告した。VRS の定量法として始めて提出された STROHECKER 氏等の方法[3] では水に懸濁した試料肉を水蒸気蒸留し，留出液を酸性の過マンガン酸カリ液で捕集している。他方，富山等は試料肉抽出液をアルカリ性で蒸留し，アルカリ性の過マンガン酸カリ液で捕集している。したがつて，これらの方法でそれぞれ定量される化合物の種類および量は当然異なつているに違いない。

因つて本報ではサバ肉の鮮度低下に伴つて生ずる VRS を中性および塩基性物質に分画し，これらが両方法によつてどの程度定量されるかについて研究した。

研 究 方 法

1. 材料: 使用したサバは市場から求めたものであつて，鮮度の異なる材料はつぎのようにして作つた。すなわち採肉後，肉挽器で細砕したものをポリエチレンの袋に入れ，冷蔵庫に放置し，適当な鮮度低下となつたものを凍結貯蔵しておき，研究の必要に応じて解凍して実験に供した。

2. pH の測定: ガラス電極を用いる日立製作所製の EHP–1 型の pH 計を用いた。

3. イオン交換樹脂による VRS の分画法: Amberlite IRC–50 の H 型および Dowex–50 の H 型を用いる VRS の分画法はいずれもほとんど同様である。すなわちサバ肉の硫酸マグネシヤによる除蛋白抽出

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka).

液[1) 100cc に 10cc の 10% NaOH を加えてから中性および塩基性物質を水蒸気蒸留し，約 100cc の留出液を集める。この留出液の pH は約 9.4 であるから，この留出液から 25cc を3個とり，稀硫酸の少量を加えて pH をそれぞれ 8.3, 7.3 および 6.3 の3区に調整した。これらを内径 8mm のガラス管にいれた 2cc のイオン交換樹脂に通し，つぎに水洗いして流出液と合わせて一定容とする。この中性物質区分は富山等の方法では 50cc とした後定量し，STROHECKER 法[3)]では 30cc とした後 10cc の 0.1N $KMnO_4$ (1l につき 40cc 濃硫酸を含む) を加えて10分間煮沸酸化し，富安氏等による同法の変法[4)]の場合は 100cc に充して後 10cc の 0.1N $KMnO_4$ と 10cc の稀硫酸 (1: 1) を加え 10 分間煮沸して酸化定量する。他方，樹脂に吸着された塩基性区分は 1N 硫酸の 15cc で溶出し，水洗いして各定量条件に応じてそれぞれ一定量とし，中性物質と同様に各種の方法で塩基性物質を定量する。

研究結果および考察

1. イオン交換樹脂による VRS の分画

前報[2)]においては，イオン交換樹脂によつて VRS を分画する場合に蒸留液をそのまま Amberlite IRC-50 に通した。しかし蒸留液の pH をさげれば，塩基性物質はカチオンとなるので，塩基性物質の分離能率をよくするだろうと考察される。因つて実験方法の項に示したように蒸留液の pH を調整した場合，塩基性物質がイオン交換樹脂に対してどのような行動をとるかを吟味した。Table 1 に示した結果からみると遊離の塩基性物質は IRC-50 の H^+ により中和されてカチオンとなり，直ちに交換樹脂に入ると推察される。しかし塩基性物質を含む液の pH をさげてから IRC-50 に通すと，塩基性物質は完全には交換されないことが分かつた。このことは流出液がネスラー試薬に反応することからも確認された。

他方，Dowex 50 の H 型を用いて同様に異なる pH の供試液を処理してみた結果は Table 2 にみられるように，pH 9.3～6.3 の範囲では塩基性物質は中性物質に混入することはなかつた。なお Dowex 50 よりの流出液をネスラー試薬によつて定性試験したところ，反応物質は供試液の pH の如何を問わず，いずれも痕跡に過ぎなかつた。

Table 1. Effect of pH adjustment of the steam distillate on the separation of basic VRS with Amberlite IRC-50.

pH value of distillate adjusted before passing through the exchanger	VRS in effluent (neutral) cc 0.05N $KMnO_4$	%	VRS in eluate (basic) cc 0.05N $KMnO_4$	%	sum of neutral and basic VRS
9.4*	0.99	100	1.58	100	2.57**
8.5	1.19	120	1.43	90	2.62
7.5	1.91	193	0.62	39	2.53
6.5	1.83	185	0.74	47	2.57

* Without any addition of sulfuric acid. The pH value of the effluent was 5.2.
** VRS value of the distillate was 2.51.

2. STROHECKER 法と富山等の方法との比較

STROHECKER 法は試料肉の pH において水蒸気蒸留したものを酸性過マンガン酸カリで酸化しており，富安氏等による変改法は原法と大同小異である。これらに対し富山等は肉の除蛋白抽出液を pH 9.3 で蒸留したものをアルカリ性過マンガン酸カリで酸化している。サバ肉についてこれらの方法による VRS 値を比較した結果は Table 3 に示すように，

Table 2. A comparison between Amberlite IRC-50 and Dowex 50 in separating basic and neutral VRS from a steam distillate of alkalized extract of mackerel flesh.

pH value of distillate	Amberlite IRC-50 Basic μe/g.	Amberlite IRC-50 Neutral μe/g.	Dowex 50 Basic μe/g.	Dowex 50 Neutral μe/g.
9.34*	31	42	36	43
8.30	29	46	34	44
7.30	27	47	35	44
6.30			33	44

* Without any addition of sulfuric acid.

Table 3. A comparison of VRS's determined by various methods.

Days of storage at 2～9°C	STROHECKER et al μe/g.	TOMIYASU et al μe/g.	TOMIYAMA et al μe/g.
3	—	25	66
4*	23	43	99
9*	52	68	132
10	57	72	196

* The minced mackerel flesh was kept in freezer after storage and then VRS was determined on 10 day.

富山法は塩基性物質を包含するだけでなく，VRSの酸化率も高いので，STROHECKER 法値よりも大きい値を示した。したがつて富山法によると少量の試料の場合にも誤差少なく定量することができる。

3. 富山等の方法および STROHECKER 法により定量される物質および割合

鮮度低下したサバ筋肉から前報[2]の方法で調整した水蒸気蒸留液を Amberlite IRC–50 に通して，中性物質と塩基性物質とに分画した。これら二つの分画区を試料として富山等の方法[1]および STROHECKER 法[3]並びにその変法[4]で直接定量した結果は Table 4 に示す通りである。この表をみると，富山等の方法が最も高い値を示し，この値を基準とすれば中性物質では STROHECKER 法および富安氏等によるその変法はいずれも 44% であり，塩基性物質では前者が 11%，後者が 30% に相当した。富山等の方法以外はいずれも酸性過マンガン酸カリ液で酸化している。もし中性および塩基性物質がアルカリ性よりも酸性に対し安定であれば，たとえ過マンガン酸カリの酸化電位は酸性の方がアルカリ性より高くとも，過マンガン酸カリの消費は小さく現われるはずである。因つて塩基性区分を代表としてトリメチルアミンについて吟味したところ，富山等の方法では 0.05 N $KMnO_4$ の 2.56 cc を消費したのに対し，STROHECKER 法では 0.11 cc，富安氏等による変改法では 0.39 cc の消費に過ぎなかつた。

Table 4. Amount of neutral and basic substances involved in VRS value determined by various methods.

Method	0.05N $KMnO_4$ cc.	VRS/25 cc. μe	%	0.05N $KMnO_4$ cc.	VRS/25 cc. μe	%
TOMIYAMA et al	0.81	16	100	1.32	26	100
STROHECKER et al	0.35	7	44	0.14	3	11
TOMIYASU et al	0.35	7	44	0.39	8	30

Table 5. Change with time of storage in neutral, acidic and basic VRS of distillates which are distilled at pH 2.0, 6.0 and 9.3, respectively.

pH at steam distillation	fraction of VRS	VRS, μe/g., of mackerel flesh stored at 6.3~9.7 C.				
		0 day	1 day	2 days§	3 days††	4 days
2.0*	N	2.6	0	2.6	54	131
	A	7.0	9.4	8.4	8.0	18
6.0**	N	0.4	9.8	4.8	46	114
	A	12	0	3.4	0	12
	B	0	1.4	8.0	11	12
9.3†	N	0.4	8.4	11	53	126
	B	10	5.8	35	52	55

* The distillate was passed through Amberlite IRA–400, the adsorbed acidic substances (A) being eluted with 1N H_2SO_4.

** The distillate was passed through Amberlite IRC–50, the effluent being passed through Amberlite IRA–400. Using 1N H_2SO_4 the basic fraction (B) was eluted from IRC–50 and the acidic fraction (A) from IRA–400.

† The distillate was fractionated with Amberlite IRC–50.

§ Rancid odor. †† Slightly putrid odor.

なお，定量操作全体をみると，富山等の方法ではアルカリ性で蒸留しているので，この場合には VRS が一部分解して留出するために他の方法より高い値を示すのではないかと疑いがもたれる。しかし除蛋白抽出液の pH を 2.0, 6.0, および 9.3 に調整してから蒸留してえた留出液を Amberlite IRA–400 あるいは IRC–50 で処理して，酸性，中性および塩基性区分に分画した結果は，Table 5 にみられるように，いずれの場合にも，また鮮度が異なつても，蒸留したものの中性区分の量には大差が認められなかつたので，以上の疑問は否定される。

以上の結果から判断すると，蒸留した VRS の定量は富山等の方法のようにアルカリ性過マンガン酸カリ液で酸化すべきであり，また中性の VRS だけでなく塩基性 VRS をも定量して VRS の定量誤差を小さくするためには試料抽出液をアルカリ性として水蒸気蒸留すべきである。

摘　　要

1. サバ肉抽出液の水蒸気蒸留液を Amberlite IRC 50 の H 型によつて中性物質と塩基性物質とに分画する場合には，蒸留液の pH を調整せずに樹脂層を流さねばならない。この分画には Dowex 50 の H 型

の方が適している。

2. STROHECKER 法の値は肉抽出液，中性物質および塩基性物質のいずれの場合にも富山等の方法値に比べて低い。

3. STROHECKER 法の富安氏等による変法値は塩基性物質では原法値よりも多少高いが，中性物質では原法値に近い。

4. トリメチルアミンを酸性の過マンガン酸カリ液で酸化した時の VRS 値はアルカリ性で酸化した場合の値よりも遙かに小さい。

文　　献

1) 富山哲夫・池浦一也・大山重信：本誌，(1959).
2) 富山哲夫・池浦一也：本誌，**26**，33 (1959).
3) STROHECKER, R., VAUBEL, R., and KIRCHBERG, H.: *Z. anal. Chem.*, **110**, 1 (1937).
4) 富安行雄・豊水正道・高橋喜久雄：九州大学農学部学芸雑誌，**12**，391 (1952).

魚類インシュリンの過蟻酸酸化について

本 間 輝 武

(1959 年 9 月 16 日受理)

PERFORMIC ACID OXIDATION OF FISH INSULIN

Terutake HONMA*

The oxidized bonito and tunny insulin have been studied by comparing paper electrophoresis in 20% formic acid and isoelectric fractionation in 0.1 M aqueous ammonia with that of the oxidized beef insulin. Oxidation of these insulins were performed with performic acid under Sanger's condition. After the electrophoresis the main three bands were present on paper in the oxidized fish insulin. One moved toward the anode and the other two toward the cathode, whereas the main two bands (A and B peptide chains) were present in the oxidized beef insulin (Fig. 1). This suggests that the fish insulin is probably composed of three peptide chains.

When the oxidized fish insulin was fractionated in 0.1 M aqueous ammonia at pH 5.5, the precipitate formed was small. The remaining fraction in the supernatant fluid showed the same three bands as the original oxidized insulin using the paper electrophoresis. Thus, the precipitation method for fractionation of the three peptide chains of the oxidized fish insulin was unsuccessful.

Also, a comparison of the nitrogen content of the each bands separated after the electrophoresis of these oxidized insulins was conducted.

牛，豚，羊，鯨の結晶インシュリン相互間の化学構造の相違は，たんにそれらのAペプタイドの第 8, 9, 10 番目のアミノ酸配置にだけあることが示されている[1]。そして，これら哺乳類インシュリン相互間のその他の物理化学的性質については，なんら相違がみいだされない。しかし，カツオ，マグロ等の魚類からえられるインシュリンは，上記哺乳類インシュリンと比較してみると，酸性溶液中における熱沈でん性，口紙クロマトグラフの Rf 値，口紙電気泳動の易動度に明らかな相違がみられる[2,3]。これらのことから考えて魚類インシュリンと哺乳類インシュリンとの相違は，さきに述べたような哺乳類インシュリン相互間の相違以上に大きなものであろうと思われる。

現在までに構造のわかつた哺乳類インシュリンはすべて異つた酸性および塩基性の 2 種類の A, B ペプタイドからなり，たがいにそれらの中に存在するシスチンの -S-S- 橋によつて結合されている[1]。魚類インシュリンにもシスチンの存在が示されており[4]，かつ，-S-S- 橋の血糖降下作用に対する重要性[5]から考えて，ペプタイド類がたがいに -S-S- 橋によつて結合し，魚類インシュリン分子を構成していることが十分考えられる。したがつて魚類インシュリンを過蟻酸酸化すれば，-S-S- 橋が開裂して，その構成ペプタイドがえられるであろう。ここにえられるペプタイド類を哺乳類のそれと比較すれば，さきに述べた理由からして十分異つていてよいはずである。この可能性を検討するため，本報においては，カツオ，マグロ，牛の酸化インシュリンについて，口紙電気泳動上，分別沈でん上，および各ペプタイドの窒素分布率上の比較を行ない，前二者と後者の間に相違を認めた。

実 験 方 法

試 料

カツオ，マグロ，牛のインシュリンは，前報[3]において使用したものと同じものである。これらの過蟻酸

* 清水製薬株式会社 (Shimizu Pharmaceutical Co., Ltd., Shimizu, Japan).

酸化は SANGER の方法[6]に大体したがつた。すなわち，インシュリン 1g を，あらかじめ蟻酸 36ml に 30% 過酸化水素水 4ml を加えて 15 分間室温に放置しておいた溶液にとかし，20 分間室温で反応させる。その後 40ml の水を加え，減圧下に濃縮する。その濃縮液に適量のアセトンを加え，生じた酸化インシュリンの沈でんをアセトン，エーテルで洗い減圧乾燥する。さらに過剰の試薬を除くため，乾燥物を少量の水にけんだくさせ凍結乾燥を行つた。収量平均ほとんど 100%.

酸化インシュリンの分別

哺乳類酸化インシュリンの A および B ペプタイドの分別方法には，(1) 等電点沈でん法[6]，(2) 口紙電気泳動による方法[1]，(3) 向流分配による方法[8]，(4) 分配クロマトグラフによる方法[9]等があるが，それらのうち比較的簡単な方法は (1) および (2) 法であろう。したがつて魚類および牛酸化インシュリンの分別の比較にも，これらの方法を応用した。

i) 等電点沈でん法　0.1M アンモニア水(pH = 10.2) 1ml に酸化インシュリンを 0.1g の割合にとかす。これに注意しながら酢酸水を滴下し，pH 5.5 にして生じた沈でんと上澄とを分離し，それぞれを凍結乾燥して，フラクション 1，およびフラクション 2 とした。その結果魚類酸化インシュリンについてえられた各フラクションの重量比を Table 1 に示す。

Table 1. Weight of two components on isoelectric fractionation of the oxydized fish insulin. Fraction 1 is the precipitate formed from the 0.1M aqueous ammonia, pH 10.2, by adjusting to pH 5.5 and Fraction 2 is the unprecipitate at the pH.

Materials	Fraction 1	Fraction 2
Oxidized Bonito insulin used 0.376g.	0.085g. (22.6%)	0.282g. (75.0%)
Oxidized Tunny insulin used 2.094g.	0.421g. (20.5%)	1.700g. (81.2%)

ii) 口紙電気泳動による法　用いた装置はだいたい前報[3]において使用したものと同じであるが，ガラス板で口紙をはさむかわりにガラスわくで口紙をはさみ泳動させた。まず泳動状件をきめるために，酸性電解質として 33% 酢酸水[3]，20% 蟻酸水[1]を用い，塩基性電解質として THEORELL 緩衝液[3]を用い，東洋口紙 No. 50 (40 × 10 cm) に試料溶液 0.046 ml (20 mg/ml の濃度) を塗布し泳動した。その結果を Fig. 1 に示す。試料溶液は，酸化インシュリンを蟻酸または THEORELL 緩衝液に溶かして作つた。泳動像の発色には，種々試みた結果ニンヒドリン法[10]が適当であつた。

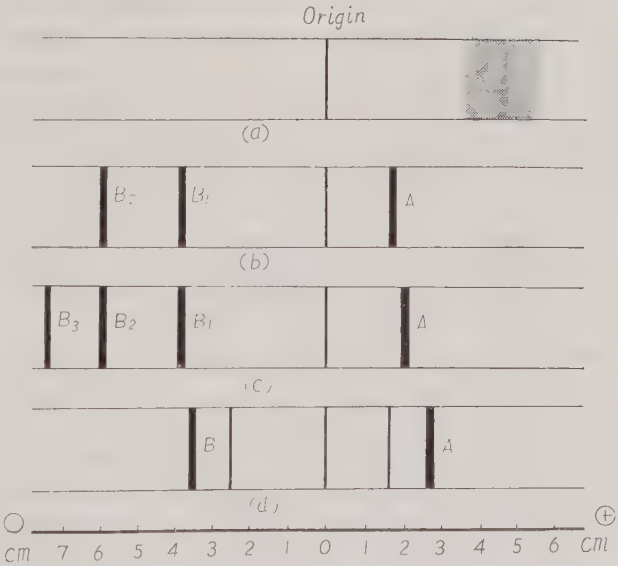


Fig. 1. Paper electrophoresis patterns of the oxidized insulin; (a) tunny, in Theorell buffer, pH 10.0, μ=0.07, (b) tunny, in 20% formic acid, (c) bonito, in 20% formic acid, (d) beef, in 20% formic acid. Each runs were electrophoresis for 6 hours at 240 volts.

泳動像の窒素量

20% 蟻酸泳動後の分離した各バンドを切り出し，適当の溶媒で抽出し，その抽出液についてアゾトメトリー[11]を行い，窒素量を測ることを試みた。各バンドを切り出すために，口紙片 2 枚を同一状件下に泳動させたのち，その一方を発色させ，他の一方から発色バンドに相当した部位をきり出す方法[12]を用いたが，必ずしも平行に泳動しない場合もみられたので，直接注意深くニンヒドリンを噴むして発色した

Table 2. Recovery test of the oxidized bonito insulin applied on paper with extracting methods. 920γ of the oxidized insulin was applied on paper and it contains 143γ of nitrogen.

Extracting methods	Nitrogen founded	Extracting ratio $N_{found}/N \cdot 143\gamma$
Warmed for 30 min. in 10 *ml.* formic acid.	136γ	95%
At room temp. for 30 min. in 10 *ml.* formic acid.	130γ	91%
Warmed for 30 min. in 10 *ml.* formic adid.	139γ	97%

バンドを切り出し，共栓試験管に入れて抽出する方法をとつた。抽出溶媒としては酸化インシュリンの溶解性から考えて蟻酸を使つた。蟻酸抽出法による回収率を検したところ，Table 2 のような結果が得られた。この結果から蟻酸で抽出することによりロ紙片に塗布した酸化インシュリンはほとんど完全に抽出できるものと思われる。

結 果 と 考 察

Fig. 1 に示したように，魚類酸化インシュリンのロ紙電気泳動像は，アルカリ緩衝液中においては明りような分別帯がえられないのに反して，酸性電解質中では明りような分別帯がえられる。この傾向は対照に用いた牛酸化インシュリンについても見られるが，アルカリ緩衝液中では，魚類よりやや明らかな泳動像がえられるようである。この理由としては，ANDERSEN[9] が酸化インシュリンの A および B ペプタイドにつきベルビタール緩衝液 (pH = 8.6, μ= 0.1) 中で泳動した場合，その B ペプタイドが粗フラクションであるほど tailing する傾向を示したように，酸化に用いた魚類インシュリンの純度が，牛結晶インシュリンに比較して多少ひくいためと思われる。つぎにすでにのべたように酸性溶液中では明りような泳動像がえられるが，33% 酢酸中より 20% 蟻酸中の方が安定した像をえることができた。これは酸化インシュリンの溶解度が，酢酸より蟻酸に対して良好のためと考えられる。魚類酸化インシュリン，および牛酸化インシュリンの酸性または塩基性溶媒に対する溶解性に関しては，あまり差異は認められない。

20% 蟻酸中において，カツオ，マグロ，牛それぞれの酸化インシュリンの泳動結果を比較すると，それぞれに差異がみられる。すなわち，牛の場合，原線から ⊕ 側に 2.7 cm, 1.7 cm, ⊖ 側に 3.6 cm, 2.7 cm のところにそれぞれ発色帯がみられる。カツオにおいては原線から ⊕ 側に 2.0 cm, ⊖ 側に 7.5 cm, 6.0 cm, 4 cm に発色帯がみられる。マグロにおいては，カツオの場合とはほぼ同じであるが，ただ ⊖ 側に一番早く動く発色帯が見当らない。Fig. 1 に示した各分別帯の色調からみると，牛の場合 A_1, A_2, B_1, B_2 は SANGER[6] の A, M, X, B, ペプタイドに相当するものと思われるが，魚類においては，B_1, B_2 ないし B_3 は，ほとんど同じ色調を示すので，これらは牛の B ペプタイドに相当するものが B_1, B_2 に分れたものであろう。マグロにみられる B_3 は，33% 酢酸中で泳動した結果，未反応のインシュリン帯であつた。したがつて魚類酸化インシュリンには牛酸化インシュリンの B ペプタイドに相当するものが 2 種あると推定できる。この結果は，最近長沢・西崎[13]がカツオ・インシュリンのアミノ末端基として，ロイシン，アラニン，グリシンの 3 種を見出したことと比べて興味がある。

魚類酸化インシュリンの等電点沈でん分画もまた，牛のそれに比べて多少異つている。牛の場合，pH 6.5～6.0[6),9)] において A および B ペプタイドに分画した場合，その重量比は等量ないし少しく B が少くなつている。魚類においては，Table 1 に示したように pH 5.5 までに沈でんするフラクションが非常に少い。pH 5.5 からの上澄液は，牛の等電点である pH 6.0 附近では全然にごりはおこらず，pH 5.7 くらいから少しずつにごり始め，pH 5.5 附近で急に沈でん量が多くなるからである。Table 1 のフラクション 1 および 2 について，20% 蟻酸中で泳動した結果，前者は ⊖ 側に速く動く 3 本の分別帯がみられるのに対して，後者では ⊕ 側に 1 本，⊖ 側に 2 本の分別帯がみられた。すなわち，フラクション 1 には，未反応インシュリンおよび牛の B ペプタイドに相当するものがふくまれているが，フラクション 2 には，未反応インシュリンはのぞかれているが，さらに牛の A ペプタイドに相当するものもふくまれる。以上の結果からここに用いた等電沈でん分画法では牛酸化インシュリンの場合のように，その構成ペプタイド類に分別することはできない。この分別法については現在研究中である。

Table 3. Nitrogen content of the separated bands of oxidized insulin after paper electrophoresis in 20% formic acid.

Materials \ Bands No.*	A	B	B_1	B_2
Oxidized beef insulin	27.2γ	47.5γ		
Oxidized bonito insulin	16.3γ		21.6γ	15.8γ
Oxidized tunny insulin	18.9γ		16.2γ	18.4γ

* The No. is shown in Fig. 1.

魚類酸化インシュリンの構造をさらに理解するため，ロ紙電気泳動で分離した各分別帯の窒素量を測定した。その結果を Table 3 に示す。

Table 3 中，牛酸化インシュリンの A_1 ペプタイド窒素量: B_2 ペプタイド窒素量の値は 1: 1.74 である。この値は，GRASSMANN 等[10] が連続ロ紙泳動によつてえた値，1: 1.65～1: 1.70 に近似的に一致する。魚類酸化インシュリンにおいては A_1, B_1, B_2 はほとんど同じくらいの窒素量を示している。また，これらについて A_1 ペプタイド窒素量: B_1+B_2 ペプタイド窒素量をみると 1: 1.8～1: 2.3 くらいとなる。したがつて魚類インシュリンは牛インシュリンより，塩基性ペプタイドが多いことも考えられる。

以上のように，魚類インシュリンと牛インシュリンの間には，過蟻酸酸化の状態に相違がみられるので，今後は魚類インシュリンの構成ペプタイド類を分別し，それらについて構造的に検討する予定である。

終りに本論文の御校閲を賜わつた清水亘教授，ならびに本研究を行なうに際して御鞭撻下さつた芦沢広課長，さらにアゾトメトリーを行つていただいた山本洋子の各氏に厚く感謝する。

文　　献

1) HARRIS, J. I., SANGER, F. and NAUGHTON, M. A.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, **65**, 427～438 (1956).
2) 本間輝武・平岡　孝: 薬誌，**78**, 1076 (1958).
3) HONMA, T.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **25**, 22～26 (1959).
4) 長沢佳熊・西崎笹夫: 衛誌報告，**74**, 179～183 (1956).
5) JENSEN, H. F.: Insulin, Its Chemistry and Physiology, pp. 59～69 (1938), New York.
6) SANGER, F.: *Biochem. J.*, **44**, 126～128 (1949).
7) 実験化学講座: 23 巻，生物化学 I, pp. 225～227 (1957)，丸善，東京.
8) PIERCE, J. G.: *J. A. C. S.*, **77**, 184～186 (1955).
9) ANDERSEN, W.: *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg. Sér. chim.*, **29**, 49～55 (1954).
10) GRASSMANN, W., STROBELL, R., HANNIG, K., and DEFFNER-PLÖK: *Z. Physiol. Chem.*, **305**, 21～33 (1956).
11) 岩崎　憲・山岸正治: 生化学，**23**, 207 (1952).
12) 山岸正治・横尾　亮・増田　享・浅井満子: 薬誌，**74**, 283～286 (1954).
13) 長沢佳熊・西崎笹夫: 第2回薬学会関東支部，1958. 10. 26. 講演発表.

致死条件が肉蛋白におよぼす影響—I.

即殺および苦悶死コイのミオシン区蛋白の組成

右 田 正 男・大 竹 茂 夫

(1959 年 11 月 4 日受理)

INFLUENCE OF DEATH CONDITIONS UPON MUSCLE PROTEINS—I. COMPOSITION OF MYOSINS FROM CARPS KILLED INSTANTLY AND IN ANGUISH

Masao MIGITA and Shigeo OTAKE*

In order to examine the influence of death conditions upon the muscle proteins, composition of myosins from two groups of carp was determined by salting-out analysis: one group was put to an instant death by beheading (Control Group), and the other was killed after being left in the air for several hours (Anguish Group).

Salting-out curves of myosins from the both groups were alike in that peaks in the range 30～45% (v/v) saturation of ammonium sulfate predominated, which are presumed to consist of actomyosin and myosin (Fig. 1 and 2), while, in Anguish Group, a fraction precipitating in the range 10～20% saturation was usually found, such fraction was not found generally in the Control Group (Fig. 1 and 2). This fraction is presumed to be actin, and this was ascertained by a rise of viscosity on mixing the fraction precipitating at 20% saturation and rabbit myosin (Fig. 3). It may be note worthy that actin was fractionated from natural myosins, since it has long escaped from detection by either electrophoretic or ultracentrifugal method.

If myosins were extracted with addition of ATP (1 mg. per g. muscle), from the muscle of carp killed in anguish, actin fraction disappeared in the salting-out curve (Fig. 4).

This as well as the fact that the muscle from Anguish Group contains far less ATP may suggest that appearance of actin in the salting-out curve might be related to ATP content of the muscle.

Sodium pyrophosphate was found to have the same effect as ATP, so far as in causing disappearance of actin fraction in the salting-out curve of Anguish group (Fig. 5).

The results were explained by the following assumptions: (i) In muscle of carp killed in anguish, interaction between actin and myosin might become weakened. The extent of the weakening, however, might be so small as it could manifest itself only in the presence of salt in pretty high concentrations as used in the salting-out analysis. (ii) The weakening of the interaction might be due to a sort of denaturation of actin and/or myosin, induced by certain factors produced in the course of biochemical change in muscle before death. (iii) ATP in the muscle might play a rôle to protect the protein from denaturation.

疲労，刺戟等によつて肉質に変化のおこることは，早くから注目されており，その研究に基いて屠肉の管理は，動物の屠殺前から合理的に行われている。魚類についても比較的苦悶させずに死んだものは“生きがいい”として，釣上げ後直ちに延髄をさして殺すことが，タイなどの高級魚では行われている。致死条件（即殺か苦悶死か）が魚の“生きのよさ”におよぼす影響については，大野等[1]，斎藤等[2]，野口[3]の研究がある。それによると致死条件による“生きのよさ”の相違は主に死後硬直の遅速（硬直のはじまるまでの時

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.).

東海区水産研究所業績 B 第 326 号

間，硬直のつよさ，硬直の続く時間）に最もよく現われており，この硬直現象の相異は，致死条件によつて筋肉中の ATP (adenosine-triphosphate) 量に差のあることに関係づけられるようである。これは ATP が解糖作用や筋肉の収縮に，重要必須の役割を果していることから，うなづけるところである。ATP はそのような生理化学的および力学的効果のみならず，蛋白化学的にも筋肉の主な構造蛋白に対して支配的な影響をもつている。したがつて致死条件によつて ATP 含量に著しい変化がおきた場合には，筋肉蛋白自身にも何か影響があるべきように思われる。これについては疲労した筋肉では塩溶液で抽出され蛋白量の減少する事実が DEUTICKE (1932) 以来知られており，また DUBUISSON[4] と JACOB[5] は，溶出する構造蛋白の消長を電気泳動法によつてしらべている。すなわち安静状態にあつたウサギの筋肉から WEBER および EDSALL 法によつて分離したミオシン区蛋白の組成を，電気泳動図からみると，α（アクトミオシンに相当），β（ミオシンに相当）および γ（未知）の3成分からなつており，その含量は $\beta > \alpha > \gamma$ の順である。疲労した筋肉からとつたものでは，α はほとんど全く消え，γ も認められず，β が主成分であることには変りないが，その量は大巾にへつているといわれている。

われわれは致死条件によつて，コイ肉のミオシン区蛋白の組成が，いかに変わるかを，塩析分析法によつてしらべた。

試料および実験方法

試　料

即殺および苦悶死コイ　　ここに**即殺コイ**というのは，鮮魚問屋の水槽からすくい上げ，直ちに頭を落し，氷冷して実験室にもち帰つたもので，断頭から抽出開始まで，1時間たらずである。**苦悶死コイ**というのは3〜4 時間室温の空気中に放置後，頭を落したものである。

コイのミオシン区蛋白　　即殺または苦悶死コイの背部の白肉 30g をとり，300ml の氷冷 0.6M KCl (pH 6.5) 溶液とブレンダーにかけ，2分間抽出し，遠心分離した上澄を氷冷水で3倍にうすめ，再び遠心分離して沈澱をあつめ，ミオシン区蛋白試料とした。

ウサギ-ミオシン　　ENGELHARDT[6] の方法による。ウサギをクロロホルム麻酔後 25% $MgSO_4$ を注射，頸動脈を切つて脱血，頭をおとし皮をはぎ内臓を除き，氷水で 10 分間冷した後肉をとる。これを肉ひき器にかけ，0.3M KCl + 0.15M りん酸カリ (pH 6.5) の3倍容と 10 分間ゆるやかにかきまぜて抽出，沪液を水で4倍にうすめて沈澱をとる。これを 0.02M K_2CO_3 にとかし pH 8.3 とする。これに 2M KCl（ミオシン 1g 当り 4ml）を加えた後，約 50 倍にうすめ，沈澱するアクトミオシンを除く。上澄に 1% 醋酸を加えて pH 7 とし，ミオシンをおとす。これを再び KCl にとかし，うすめて再沈澱させる。抽出に用いる器具試薬は，すべて氷冷し，操作は冷室（約 3°C）で行つた。

製品の粘度数 $Z_\eta (= \ln \eta_r / c) = 0.16$

塩析分析

SNELLMAN および TENOW[7] の方法によつた。すなわち，まず次の A, B 2液を用意する。

A 液:　0.1M りん酸塩緩衝液 (pH 6.9) を含む 0.6M KCl 溶液。

B 液:　A 液に硫安を 0°C で飽和させたもの (pH 6.9)。

A 液にコイのミオシン区蛋白試料をとかし (2〜3mg· Protein/ml), その 3ml ずつをとり，これに A 液と B液とを適当に混合したもの 7ml を加え，合計 10ml とし，その硫安飽和度 (v/v) を 6% から 64% まで，2% 間隔になるようにした。よく混合した後，冷室（約 3°C）に 20時間放置し，東洋沪紙 No. 2（定性用）を洗つて乾かしたものでこし，沪液の波長 275mμ における吸光度 (S) をはかる。硫安飽和濃度 $C=0$ の時の吸光度を 100 とし，$S \sim C$ の関係を図示し，これから $-\Delta S/\Delta C$ を求め，再び C に対して図示するとそれぞれの硫安濃度で塩析された蛋白の量を知ることができる。ウサギの筋肉の主な構造蛋白の硫安に対する沈澱域（各蛋白を沈澱させる硫安の飽和度の範囲）は，SNELLMAN 等[7] によると，アクチン，9〜20%；アクトミオシン，28〜32%；ミオシン，32〜45%；トロポミオシン，55〜64% である。

Δ_7P-P の定量

試料肉 10g を水 20ml で浸出し，三塩素醋酸で蛋白を除き，沪液を 0.1N の酸とともに7分間，煮沸水中で加熱し，その前後の無機りん酸の差をとる。

結　　果

I. 即殺および苦悶死コイのミオシン区蛋白の塩析分析

コイのアクトミオシンは夏と夏以外の季節では，粘度的にはつきりとちがう性質を示すことが確かめられ

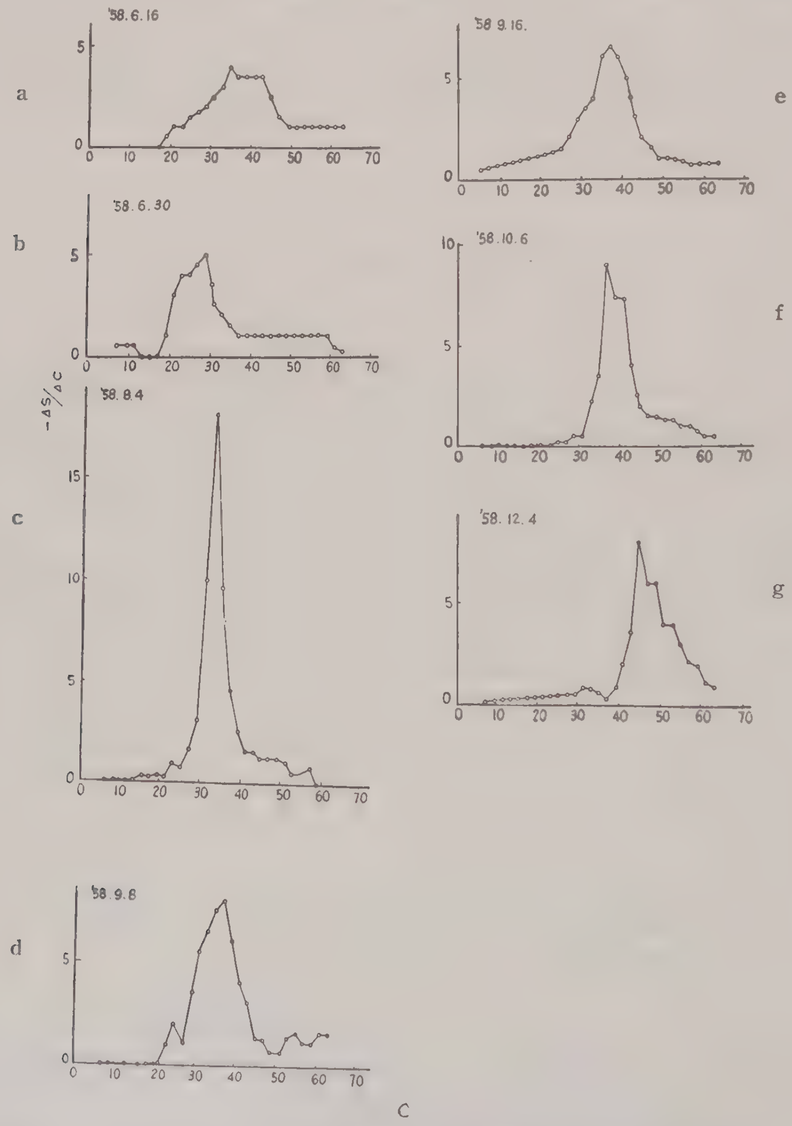


Fig. 1. Salting-out curves of myosins from carp put to instant death.
S: the extinction at 275 mμ. The initial extinction is put to 100.
C: per cent in volume of saturated ammonium sulfate solution.
Equilibrium temperature ca. 3°C. Time for equilibrium: 24 hours.
$-\Delta S/\Delta C$: the derived salting-out curve.

ているので[8]，6月より約半年にわたる各季節のコイについて，即殺および苦悶死の2群にわけ，そのミオシン区蛋白の組成を，塩析分析法で求めた。

なおコイのミオシン区蛋白は，稀釈沈澱をくりかえして精製しようとすると，塩溶性を速かに失うのでミオシン区蛋白の全貌をつかむ意味で，抽出液をうすめて生じた沈澱を，そのまま試料とした。したがつて塩析曲線には不明の点も多いが，それでも各群の特徴や相異を充分知ることができた。

Fig. 1, a～g は即殺群についての結果であるが，つぎの2つのことがはつきりいえる。(i) 山の分離は完全ではないが，とにかくいずれも1つの大きな山が，ほとんど全体を支配している。この主峯は，硫安濃度30～45% の間にみられるものが多いが，18～23% (1–b)，または 40～50% (1–g) となつているものもある。(ii) 低濃度 (10～20%) の硫安で沈澱する成分は全くないか，たとえあるらしくみえても (たとえば 1–b) 無視できる程度である。

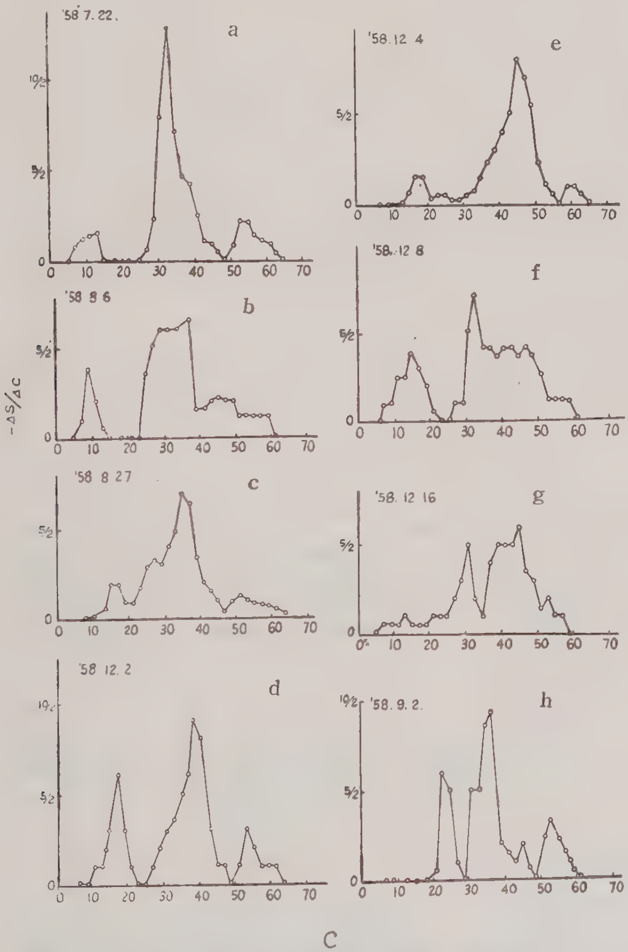


Fig. 2. Salting-out curves of myosins from carp killed in anguish. Conditions as in Fig. 1.

ウサギについて広く認められている筋肉の主な構造蛋白の沈澱域の値が，そのままコイ肉の場合にもあてはまるものとすると，30～45%の主峯はアクトミオシンからなると推定される。試料の不純のため山の分離がわるく，また山の位置のずれも想像されるので，この山を作つているアクトミオシンとミオシンの割合をはつきり推定できないものもあるが，1–c の試料ではアクトミオシン，1–g 試料ではミオシンがほとんど大部分と想像される。

Fig. 2, a～h は苦悶死群の塩析曲線を示す。図に明かなように，この場合もアクトミオシンとミオシンが，主であることは変りないが，即殺群との著しい相異は，アクチンと推定される成分が，8例中1例 (2–h) を除くとはつきりと認められることである。その量は 2–g のように少量の場合もあるが，2–d および f のように，副成分といえる場合もある。なお $C=50～60\%$ の間に，はつきりした山を示した場合の多いことも，苦悶死群の塩析図の，1つの特徴といえるだろう。この山はウサギの場合に準ずると，トロポミオシンと推定されるもので，即死群の塩析図にも，その存在が認められるような例もあるが，量的にごく僅かであつて，苦悶死群の場合とくらべものにならない。

なお Fig. 1 および 2 を通じ，夏のコイと他の季節のコイの間に，粘度から想像されるような相異を，塩析曲線上に見出すことはできなかつた。

II. 硫安の低濃度区分で沈澱する成分の吟味

即殺群と苦悶死群のコイのミオシン区蛋白にみられるはつきりした相異は，塩析曲線にあらわれたところでは，硫安の 10～20% 飽和でおちるアクチンと推定される部分が，苦悶死群にのみ認められることである。一方，従来の研究によると，即殺型と苦悶死型の筋肉の成分にみられる重要な相異は ATP の含量であつて，苦悶死型のものは，即殺型にくらべて著しく小さい。われわれは，$\Delta_7 P-P$ の値をしらべたが，即殺型 60 mg% に対して苦悶死型 5 mg% 程度であつた。したがつて ATP 含量の著しく低い試料にアクチンが認められ，ATP 含量のはるかに高い試料にはアクチンが現われないことになる。もしそうだとすれば，多くの研究者によつて，ATP はアクトミオシンを，アクチンとミオシンに解離するとされていることと一見矛盾するようにみえ，はなはだ興味のあることである。従来ミオシン区蛋白の組成について，超遠心法，電気泳動法による研究がしばしば行われているが，これらの方法でアクチンが検出された例は，ないようである。また塩析分析法では，アクチンと思われる山の認められた例[9),10)]と，認められなかつた例[8)]とがある。かつ認められた場合でもその山はごく小さく，特に確認されてはいない。そこで 10～20% 区分でおちるものが，ウサギの場合と同様事実アクチンであることを確める必要があると思い，つぎのような実験を行つた。

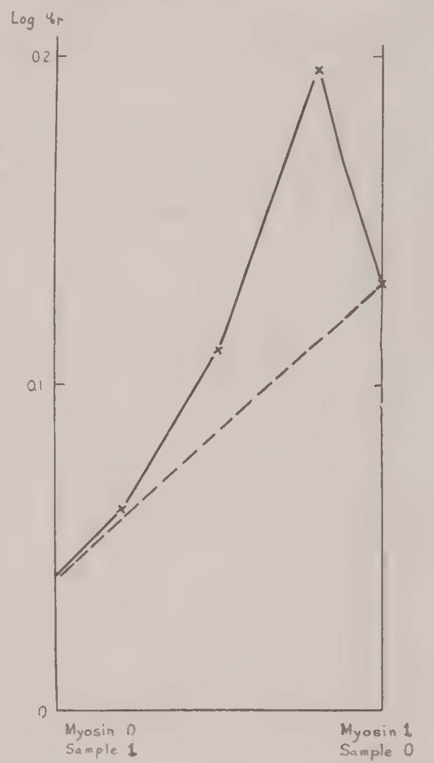


Fig. 3. Viscosity of the mixture of rabbit myosin and the fraction salted-out at 20% saturation (v/v) of ammonium sulfate. Full line: observed viscosity. Broken line: viscosity expected when the sample does not react with myosin.

硫安濃度 20% でおちた区分を集め，これを 20 倍の 0.6 M KCl にとかし，この溶液とウサギ肉から抽出したミオン溶液 (1.7 mg/ml) とを，いろいろの割合にまぜ，各混合液の相対粘度 η_r を求め，log η_r の値を両成分の組成に対して図示し，Fig. 3 の実線に示すような結果をえた。もし試料とミオシンとが反応しなければ，混合系の示す log η_r の値は，両成分の示す値の和，すなわち Fig. 3 の点線で示した直線上にあるはずである[11)]。また試料がアクチンの場合には，混合系の示す log η_r の値は，点線で示した直線上の相応する値よりも，高くでるはずである[12)]。Fig. 3 は試料がアクチンであるためのこの条件がみたされていることを示している。このことと，硫安に対する沈澱域の値から，試料はアクチンであるとみてさしつかえない。

III. ATP の添加が塩析曲線におよぼす影響

(i) ミオシン区蛋白の塩析曲線にアクチンの現われること，および (ii) ATP 含量のきわめて少いことは苦悶死型筋肉の大きな特徴といえる。この 2 つの特徴の間に，何か因果関係が，あるかを知る手がかりとして，苦悶死したコイの肉を，ブレンダーにかけ蛋白を抽出する際，ATP を添加 (筋肉 30g 当り 30 mg) したものと，しないものとの塩析曲線をしらべた。

Fig. 4 a および 4 b の実線は，ATP を加えないで抽出した場合の塩析曲線であつて，a 図では，アクチンの大きな山があり，b 図でも，ごく小さいがはつきりした山が認められる。ATP を添加して抽出した場合には，点線で示すように，a 図では 10～20% にあつた大きな山が消えて，10% の辺に小さい山を示すばかりとなり，b 図でも，12% の辺にあつたはつきりした山がなくなつている。すなわち塩析曲線のア

クチン区分に関する限り，ATP を加えて抽出すると，苦悶死型の筋肉が，即殺型の筋肉に著しく近くなることがわかる。

なお，ATP の添加によるアクチンの減少乃至消失を，アクトミオシンとミオシンの量的関係の変化によつて裏づけたいと思つたが，今回の実験条件の下の結果からは不可能であつた。たとえば，山の分離も比較的よく，かつ ATP の添加によつて 30~45% 沈澱区分にも著しい変化を示している b 図の場合，$C=30\%$ に頂をもつ山をアクトミオシン，$C=40\%$ のものをミオシンと推定できないこともないが，そうすると ATP を加えた場合，アクチンの山が消えると同時に，アクトミオシンの山もほとんど消え，ミオシンの山が鋭く高くなつていることになり，この間の事情は簡単に説明できない。

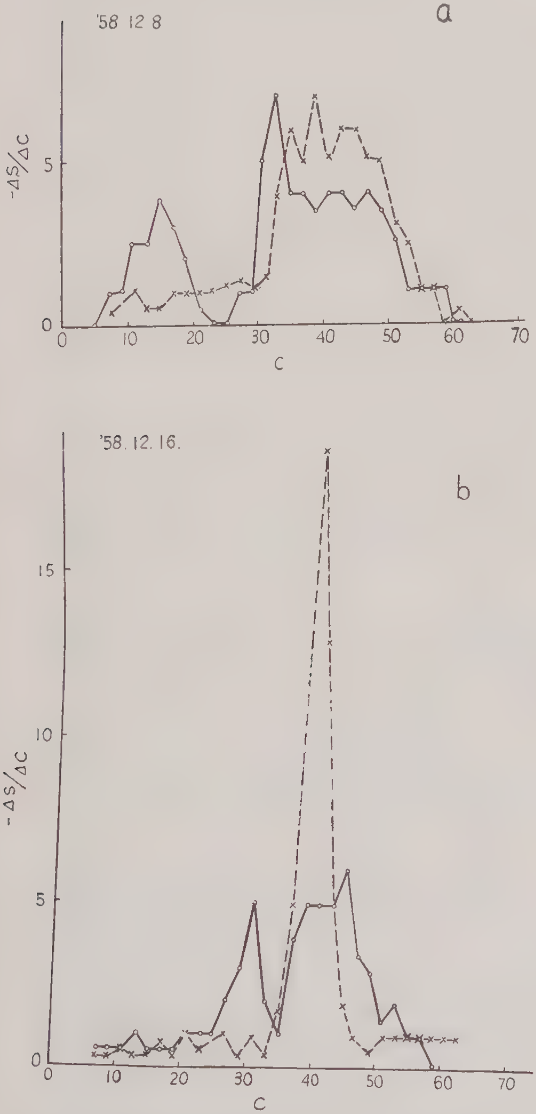


Fig. 4. Influence of ATP on salting-out curves of myosins from carp killed in anguish. -○—○- Control. ··×····×·· Myosins was extracted in the presence of ATP. Conditions as in Fig. 1.

IV. ピロりん酸塩の添加が塩析曲線におよぼす影響

ピロりん酸塩の少量は，0°C でアクトミオシンをみかけ上解離させる作用があり，この点だけについてみれば，ATP と同様の作用がある[13]とされている。そこで ATP の代りに，ピロりん酸塩（抽出液中の濃度 0.1M/l）を添加して，抽出した苦悶死コ

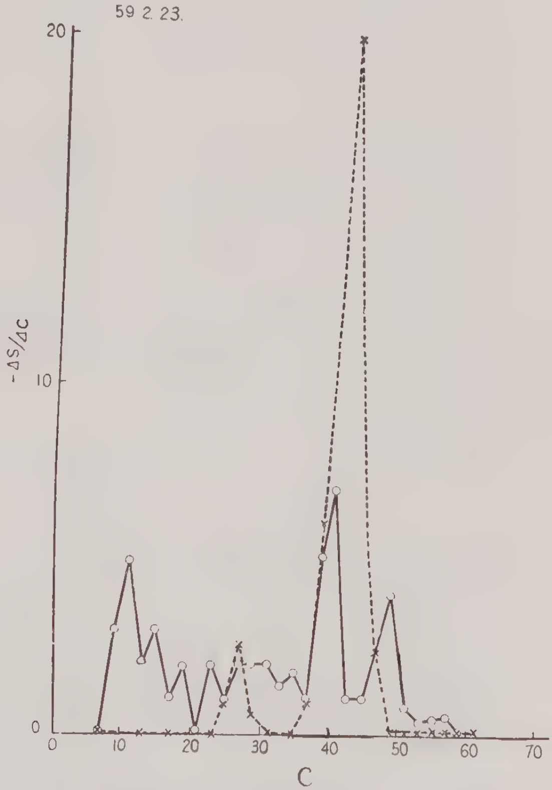


Fig. 5. Influence of sodium pyrophosphate on salting-out curves of myosins from carp killed in anguish. -○—○- Control. ··×····×·· Myosins was extracted in the presence of sodium pyrophosphate. Conditions as in Fig. 1.

イ肉の塩析曲線を求めた。結果は Fig. 5 に示すように，ATP 添加の場合と同様，対照にみえていた硫安飽和 10～20% の大きい山は全く消え，38～50% の山が著しく高くなつている。

すなわちピロりん酸塩を加えることによつても，苦悶死型の筋肉は，即殺型に近い塩析曲線を示すようになる。

考　　　察

ミオシン区蛋白よりアクチンの分別　苦悶死コイのミオシン区蛋白の塩析曲線にアクチンが検出され，分別し確認されたことは，注目に値する。何故ならば，アクチンが，ミオシン区蛋白 (natural actomyosin) の構成成分の一つであることは，疑のないところであるが，電気泳動や超遠心分離によつても，その存在を直接証明することは，できなかつたからである*。ATP のようにアクトミオシンをアクチンとミオシンに完全に解離させると，いろいろの点から信じられている物質の存在の下でも，アクトミオシンの構成分としてアクチンを検出することのできないことが，多くの研究者によつてのべられている[14]。最近 HAMOIR[15] はコイ-アクトミオシンについて，同様のことをみている。すなわち 1 時間抽出のコイ-アクトミオシン溶液に，充分多量 (溶液中の濃度 0.5%) の ATP と，0.01 M/*l* の $MgCl_2$ (ATP-ase の作用を抑える) を加えて，超遠心分離すると，アクトミオシンの山は消えて，新たにミオシンの山が現われるが，アクチンの山は遂に検出できなかつた。多分，F-アクチンの沈降が，あまり速いためであろうといつている。

アクチン区分の出現について，塩析分析の結果は，前にも述べたが，必ずしも一致していない。たとえば右田・鈴木[8] はウサギ―アクトミオシンの塩析分析で，アクチンを認めることができなかつたが，安井等[9] はウサギの，橋本・安井等[10]は牛肉 (*M. semitendineus*) のミオシン B (天然アクトミオシン) について，ごく小さいが，アクチン区分の認められる塩析曲線をえている。このように，人によつて塩析曲線にアクチンの山が，検出できたり，できなかつた例があつたり，またできた場合でも，その山がごく小さいことは，即殺および苦悶死コイについてのわれわれの実験結果から推察すると，原料とした動物の生化学的状態および抽出条件の相異などが，微妙に影響した結果ではないかと思われる。しかしとにかくアクチンの山が認められた例のあることは，塩析分析を用いれば，適当な条件の下では，ミオシン区蛋白から，アクチンを検出しうる可能性のあることを，示すものであろう。

われわれの実験で，コイのミオシン区蛋白からアクチンが検出され，かつ分別されたのは，(i) 苦悶死という特殊の条件の肉を原料としたこと，および (ii) 塩析分析というかなり高いイオン強度の下における分別沈澱法を用いたことに，大きい原因があるように思われる。これらの点については，なお次節に考察をめぐらしてみたい。

アクチン出現の条件　実験の結果によると，コイのミオシン区蛋白の塩析曲線に，アクチン区分が現われるか否かは，筋肉中の ATP の含量と関係ありそうに思われる。ここでまず考えられるのは，ATP がアクチンと ミオシンとの結合を切る作用をもつていることである。解離剤の 存在の下における 筋肉蛋白の抽出については，HASSELBACH および SCHNEIDER[16] の研究がある。すなわちウサギのあらくひいた筋肉をピロりん酸塩をふくんだ 0.6 M KCl で抽出すると，アクチンをごく少量しかふくまないミオシンがえられる。HASSELBACH 等はこれを，ピロりん酸の解離作用によるものと考えた。すなわちピロりん酸塩の作用によつて，ミオシンとアクチンとが離れると，長い糸状のアクチン分子は，筋肉組織中にとらえられてほとんど溶出できず，ミオシンだけが，抽出されるというのである。この説明は，われわれの実験結果の解釈に対しても，一見有力な手がかりを与えるようにみえる。しかしわれわれの場合には，この解釈を適用することはできない。何故ならば，第 1 にわれわれは，抽出にブレンダーを用いている。ところが，HASSELBACH 等も注意しているように，アクチンの溶出を妨げるピロりん酸塩の効果のあらわれるのは，あらくひいた肉の場合にかぎり，ブレンダーにかければ，アクチンもミオシンとともに抽出されてくるからである。第 2 に，

* アクチンとミオシンを混合した人工アクトミオシン溶液の超遠心分離では，人によりその条件に不一致の点もあるが，アクチンの山が認められている (BAILEY, K.: "The Proteins" II, p. 987)。

よく知られているように，魚肉の場合はアクチンも抽出されやすく，ウサギ肉の場合，普通ミオシン A のえられるような条件の下ででも，アクトミオシンが抽出される[17]からである。したがつてわれわれの場合には，即殺，苦悶死いずれにしても，塩溶液によつて，アクチンもミオシンも抽出されている，と考えねばならない。しかしこの抽出液から，稀釈沈澱法でえられたミオシン区蛋白中で，アクチンとミオシンとが，どんな状態で存在しているかは，塩析分析の結果によると，致死条件によつて異なるようにみえる。すなわち即殺型筋肉では，アクチンは全部ミオシンと結合してアクトミオシンとなつているが，ミオシンの一部はこの結合に与らず，遊離の状態で存在しているように見える。このことは，DUBUISSON[4]がウサギ，HAMOIR[15]がコイの各ミオシン区蛋白について，行つた電気泳動的研究の結果とも一致している。一方，苦悶死コイの場合には，塩析曲線にアクトミオシン，ミオシンのほか，アクチン区分も認められる。これについては，つぎのような2通りの解釈ができるだろう。(i) 苦悶死型のミオシン区蛋白中では，アクチンの一部はミオシンと結ばれていないで，遊離状態で存在している。(ii) ミオシン区蛋白の成分は，苦悶死型でも即殺型でも，ミオシンとアクトミオシンであることにかわりはない。ただ苦悶死型と即殺型とではアクトミオン中の，アクチンとミオシンとの結合の強さにちがいがあり，それが，塩析分析という特殊の条件の下で，苦悶死型アクトミオシンの一部の解離となつて現われたにすぎない。

現在の段階では，そのいずれかを決定することはできない。しかしわれわれの苦悶死型の筋肉を，疲労した筋肉の一種と考えうるならば，疲労したウサギのミオシン区蛋白の電気泳動図に，アクチン区分の認められないこと[5]は，(i) よりも (ii) の考えに有利である。なお塩析分析は，かなり高いイオン強度*の溶液中で行われるものである。したがつてウサギ-アクトミオシンについて，イオン強度1以上の溶液中では，アクチンとミオシンの結合のよわめられていることが，粘度および ATP 感性の低下から推論されていること[18]は，(ii) の考えを支持するものであろう。

そこで，一応 (ii) の解釈をとれば，苦悶死型筋肉から抽出されたアクチンとミオシンとは，その結合力がある程度よわめられていることになる。一方，この結合力の弱化は，ATP と何か関係ありそうに見える。すなわち，(i) ATP 含量の少い苦悶死型筋肉に認められ，(ii) 抽出のさい ATP を加えれば，回復する。しかし，ATP の従来知られている性質からみて，その含量が少いというだけで，アクチンとミオシンの相互作用の弱化が，おこるとは思えない。相互作用の弱化は，死直前の筋肉の代謝と関係があり，その過程中に，アクチンまたはミオシン，あるいはその双方を，変性させるような要因が生ずるために，おこるのではないだろうか。相互作用の弱化が，即殺したコイ肉には認められず，ATP 含量の少い苦悶死コイ肉にのみ現われることから，ATP は，アクチンまたは（および）ミオシンを，変性から守る役をしているように思える。ATP またはピロりん酸塩の添加によつて，アクチン-ミオシンの相互作用が回復することは，相互作用弱化の原因となつた変性の性格の一面を示すものであろう。

摘　　要

致死条件が肉蛋白におよぼす影響をみるために，即殺および苦悶死の群のコイについてミオシン区蛋白の組成を，塩析分析によつてしらべた。

1) 即殺と苦悶死とを問わず，コイのミオシン区蛋白の塩析曲線は，硫安の 30～45% 飽和の間に，大きな山をもつている。これは，アクトミオシンとミオシンからなると推定される。両群の著しい相異は，硫安の 10～20% でおちる区分が，苦悶死群にのみみられ，即殺群にはみられないことである。この区分は，アクチンと推定されるもので，事実ウサギ-ミオシンとまぜると，著しく粘度の上ることから確められた。

2) ミオシン区蛋白中のアクチンは，今まで，直接検出することさえ，むづかしかつた。しかし，原料として，苦悶死という特殊条件下の肉を，分別法として，塩析分析法を用いれば，分別することもできる。

3) 苦悶死したコイ肉に，ATP を加えて抽出すると，そのミオシン区蛋白の塩析曲線から，アクチン区分がほとんど消えて，即殺型の曲線に近づく。

* 10% 飽和の硫安溶液のイオン強度は1強である。

4) ATP の代りに，ピロりん酸塩を用いても，同様の効果がある。

以上の事実を説明するために，つぎのような推論を試みた。

（i） 苦悶死したコイのアクチンとミオシンとは，互に作用しあう力が，ある程度よわめられている。この相互作用の弱化は，普通の条件の下では明かでないが，塩析分析のような高濃度の塩の存在の下ではじめて現われてくる程度のものである。

（ii） 相互作用の弱化は，筋肉の代謝の過程中に，アクチンまたは/およびミオシンを，変性させるような要因が，生ずるためにおこる。筋肉中の ATP は，この変性を防ぐ役をしているのであろう。

実験に始終協力された中平園子嬢，ならびに結果のとりまとめにあたり，有益な意見をよせられた，松本重一郎，岡田稔の両氏に，深謝いたします。

文　　献

1) 天野慶之・尾藤方通・河端俊治： 本誌，**19**，487 (1953).
2) 藤巻正生・古城健三： 同上，499 (1953).
3) 野口栄三郎： 日水研報告 **5**，1 (1957).
4) DUBUISSON, A.: BAILEY, K. "The Proteins", vol. **II**, p. 1007, Academic Press, New York, (1954).
5) JACOB, J. J. C.: 同上，p. 1008.
6) ENGELHARDT, V. A.: "Advances in Enzymol.". **VI**, 151～153 (1947).
7) SNELLMANN, O., TENOW, M.: *Biochem. et Biophys. Acta* **13**, 199 (1954).
8) 右田正男・鈴木たね子： 本誌，**25**，319 (1959).
9) YASUI, T., *et al.*: *J. Biochem.* **45**, 717 (1957).
10) HASHIMOTO, Y., *et al.*: Food Research, **24**, 185 (1959).
11) KAUMANS, H. WEBER, H. H., PORTZEHL, H.: "Advances in Protein Chemistry" **VII**, p. 226, Academic Press, New York, (1952).
12) WEBER, H. H., PORTZEHL, H.: 同上，p. 227.
13) STRAUB, F. B.: 同上，p. 228.
14) WEBER, H.H., PORTZEHL, H.: 同上，p. 226.
15) HAMOIR, G.: "Contribution a l'étude de Protéins musculaires de Poisson" (1955), p. 105～106, H. Vaillant-Carmanne, S. A., Liège (1955).
16) HASSELBACH, H., SCHNEIDER, G.: *Biochem. Z.* **321**, 461 (1951).
17) HAMOIR, G.: "The Biochemistry of Fish" p. 18 Cambridge Univ. Press, (1951).
18) WEBER, H. H., PORTZEHL, H.: "Advances in Protein Chemistry" **VII**, p. 218.
19) EDSALL, J. T., MEHL, J. W.: *J. Biol. Chem.* **133**, 409 (1940).
20) WEBER, H. H., PORTZEHL, H.: "Advances in Protein Chemistry" **VII**, p. 218.

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—V.

腸球菌と他の菌種との抗生物質に対する感受性の比較

堀江 進・関根 隆

(1959 年 9 月 3 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—V.

COMPARISON OF SENSIBILITY TO VARIOUS ANTIBIOTICS BETWEEN ENTEROCOCCI AND OTHER ORGANISMS

Susumu HORIE and Yutaka SEKINE*

CYD broth** (polypepton 2%, dextrose 1.5%, Na-citrate·$2H_2O$ 1%, yeast extract 0.5%, NaCl 0.5%, K_2HPO_4 0.3%, KH_2PO_4 0.3%, pH 7.0) was found to be a suitable nutrient medium for growth of enterococci, as reported in the preceding paper[7]). By the addition of some effective bacteriostatic agents to this medium, a selective medium for enterococci will probably be obtained. In an attempt of finding such useful inhibitory agents, the authors compared the sensibility against various antibiotics, using CYD agar plate as a basal medium, between enterococci and other organisms. In comparison with other gram-positive organisms, enterococcal strains were found to be highly resistant to fradiomycin, streptomycin, viomycin and oxytetracycline. Particularly, enterococci were characterized by their high resistance to fradiomycin, viz., a concentration of 25γ per m*l* of fradiomycin in CYD agar inhibited all of the gram-positive organisms tested except enterococci, whereas even a concentration of 100γ per m*l* of this antibiotic failed to inhibit the growth of enterococci. In the case of CYD broth medium, it was likely that a concentration of more than 100γ per m*l* of fradiomycin in the medium will be required for inhibiting gram-positive organisms other than enterococci. Any of antibiotics examined in this study could not inhibit all of gram-negative organisms when used in a concentration that allows the growth of enterococci. Enterococci showed a higher resistance to colistin as compared with coliform organisms, viz., all of enterococcal strains tested grew in the CYD agar containing 30,000 u. per m*l* of colistin, whereas almost all strains of coliform group were inhibited in a concentration of 300 u. per m*l*. It was noted that there exists a specific relation between the type of enterococcus group and the sensibility to leucomycin, viz., a concentration of 0.5γ per m*l* of leucomycin in CYD agar inhibited only type III of enterococcus group.

緒 言

腸球菌の制菌剤に対する抵抗性に関しては，すでに FLEMING[1]), BORNSTEIN[2]) によつて，本菌はペニシリン並びに tellurite に対し比較的抵抗性の強いことが認められており，またスルフォンアミド剤抵抗性に関しては NETER[3])の報告がある。腸球菌と一般細菌との間における，あるいは菌型を異にした腸球菌々株相互の間における制菌剤に対する抵抗性の比較は，腸球菌群の分類上の位置を確立する上に，また本菌群の中における菌型を区分する上に役立つ可能性が考えられるが，また一方において，本菌検査用の選択培地に応用し得る適当な制菌剤を探索する上においても有意義である。HAJNA および PERRY[4])の腸球菌検出培地に

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).
** Citrate yeast dextrose broth.

Table 1. Comparison of sensibility to various antibiotics

Organism \ Concentration of antibiotic			Chloramphenicol γ/ml				Streptomycin γ/ml				Tetracycline γ/ml				
			100	10	1	0.1	1000	100	10	1	100	10	1	0.1	0.01
Enterococci	Strains of ATCC	*Streptococcus faecalis* 8043	−	−	+	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+
		Str. faecalis 10541	−	−	+	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+
		Str. liquefaciens 4532	−	−	+	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+
		Str. zymogenes 10100	−	−	±	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+
		Str. durans 9810	−	−	+	+	−	±	+	+	−	−	−	+	+
	Own strains	Y 137 (type Ⅰ)	−	−	±	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+
		Y 161 (type Ⅱ)	−	−	+	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+
		K 40 (type Ⅲ)	−	−	+	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+
Other gram-positive organisms		*Bacillus subtilis*	−	−	±	+	−	−	+	+	−	−	−	−	+
		Micrococcus piog. var. *aureus*	−	−	+	+	−	−	+	+	−	−	−	−	+
		Micrococcus conglomeratus	−	−	−	+	−	−	+	+	−	−	−	−	+
		Micrococcus citreus	−	−	+	+	−	−	+	+	−	−	−	−	+
Gram-negative organisms		*Aerobacter aerogenes*	−	−	+	+	−	−	+	+	−	−	+	+	+
		Proteus vulgaris	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	+	+	+
		Proteus morganii	−	+	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+	+
		Salmonella typhimurium	−	−	+	+	−	+	+	+	−	−	+	+	+
		Flavobacterium fuscum	−	−	+	+	−	−	+	+	−	−	−	−	+
		Pseudomonas aeruginosa	−	±	+	+	−	−	+	+	−	−	+	+	+
		Serratia marcescens	−	±	+	+	−	−	+	+	−	+	+	+	+

は NaN_3 が用いられており，Difco manual[5]に記載されている WINTER および SANDHOLZER の確認試験用培地には NaN_3 の他にペニシリンが利用されている。さらに LITSKY[6] は NaN_3 とエチルバイオレットとを併用した培地を報告している。

堀江[7] は前報において，腸球菌の発育に極めて好適な citrate yeast dextrose broth（2% ポリペプトン，1.5% ブドウ糖，1% Na–citrate·2 H_2O, 0.5% 酵母エキス，0.5% NaCl，0.3% K_2HPO_4，0.3% KH_2PO_4，pH 7.0，以下 CYD broth と略記）について報告したが，本培地を基礎として腸球菌の選択培地を導き出す意図から，培地に選択性を与える上で，最も好ましい制菌剤を探索することを主眼として，特に抗生物質並びに色素類等に対する腸球菌と他の一般菌種との感受性について，広範囲にわたり比較検討したが，その中，抗生物質に関する結果について報告する。

実験材料および方法

1. 実験に用いた抗生物質

ペニシリン G Na 塩（明治製菓），ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩*(明治製菓)，クロラムフェニコール（三共），テトラサイクリン塩酸塩（万有製薬），クロルテトラサイクリン塩酸塩（日本レダリー），オキシテトラサイクリン塩酸塩（台糖ファイザー），ロイコマイシン酒石酸塩（東洋醸造），コリスチン塩酸塩（八州化学），バイオマイシン硫酸塩（三共），グラミシジン J 塩酸塩（日研化学），オーレオスライシン（万有製薬），ポリミキシンB硫酸塩（台糖ファイザー），バシトラシン，エリスロマイシン，フラジオマイシン。

上記の 15 種の抗生物質を用いたが，いずれも力価の明らかなもので，それぞれ括弧内に記載した各会社より寄贈されたものであり，記載のないバシトラシンは国立予防衛生研究所柳下技官より，またエリスロマ

* 以下略してストレプトマイシンと記載した。

between enterococci and the other organisms.

Chlortetracycline γ/ml					Oxytetracycline γ/ml					Fradiomycin γ/ml				Viomycin γ/ml			
100	10	1	0.1	0.01	100	10	1	0.1	0.01	100	10	1	0.1	1000	100	10	1
−	−	−	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	±	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	±	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	±	+	−	−	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	±	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	±	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−	−	+	+
−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+	+	+	−	−	+	+
−	−	−	−	+	−	−	−	−	±	−	−	−	+	−	+	+	+
−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−	−	+	+
−	−	−	+	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+
−	−	−	+	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+
−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	+	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+	±	+	+	+
−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−	−	+	+
−	−	+	+	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+	±	+	+	+
−	±	+	+	+	−	+	+	+	+	−	+	+	+	±	+	+	+

イシン並びにフラジオマイシンは同研究所の山崎技官より分与されたものである。

2. 供試菌株

腸球菌並びに大腸菌群の全菌株およびその他の若干の菌株は当教室の保存菌株を使用したが，この他に京都大学農学部木俣教授，千葉大学腐敗研究所相磯教授，東京大学農学部飯塚助教授，国立予防衛生研究所草間技官，河端技官，長尾研究所椛博士等より多数のグラム陰性並びに陽性菌々株の分与を受けた。この報告では一般に腸球菌の分類は堀江[8]の方法により，大腸菌群は IMVIC system によつた。

3. 抗生物質に対する感受性の観察実験

基礎培地として一般に前記 CYD broth に 2% の寒天を添加した CYD 寒天平板を用いたが，特にフラジオマイシンについては CYD broth における観察を行つた。感受性比較実験を行つた各抗生物質の濃度は腸球菌と他種細菌との感受性の差異を見出だすことを主眼として，適当に選定した。試験すべき各抗生物質の濃度の 10 倍濃度の溶液を無菌的に調製しておき，CYD 寒天を用いた場合には，この溶液を，予め加熱溶解して約 50°C に冷却した CYD 寒天の 9 倍量に，無菌的に加えて混积した後，シャーレに流し，平板培地とした。試験菌株をブイヨン (1% ポリペプトン，1% 肉エキス，0.2% NaCl) に 37°C で 24 時間培養し，その 1 白金耳を上記平板培地に画線し，37°C で 24 時間培養後の発育を観察したが，各実験結果を示した Table において，＋ は発育したものを，− は完全に発育を阻止されたものを，± は著るしく阻害され 僅かに発育したものを表わした。CYD broth を基礎培地としたフラジオマイシンの 試験の場合 には前記同様の 10 倍濃度のフラジオマイシン溶液 1ml を，減菌した CYD broth の 9ml に無菌的に注加しさらに 100°C 10 分間の減菌を行つた。CYD 寒天の場合と同様に，ブイヨンにおける 24 時間培養の 1 白金耳を，上記の CYD broth に接種し，37°C で 24 および 44 時間培養後の発育度を，肉眼的に観察したが，実験結果を表示するに当つては，CYD 寒天の場合と異り，基礎培地の CYD broth における発育度が菌種により著しく異なるので，これらの状態を明示するため，各試験管における発育度を，その程度に応じて

Table 1. Continued.

Organism		Concentration of antibiotic	Colistin u./*ml*					Penicillin u./*ml*				Leucomycin		
			30,000	3,000	300	30	3	100	10	1	0.1	100	10	1
Enterococci	Strains of ATCC	*Str. faecalis* 8043	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	−
		〃 10541	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
		Str. liquefaciens 4532	±	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	−
		Str. zymogenes 10100	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
		Str. durans 9810	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
	Own strains	Y 137 (type Ⅰ)	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	±
		Y 161 (type Ⅱ)	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
		K 40 (type Ⅲ)	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	−
Other gram-positive organisms		*Bacillus subtilis*	−	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
		Micrococcus piog. var. *aureus*	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
		Micrococcus conglomeratus	−	−	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
		Micrococcus citreus	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−
Gram-negative organisms		*Aerobacter aerogenes*	−	−	−	−	+	−	+	+	+	+	+	+
		Proteua vulgaris	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+
		Proteus morganii	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Salmonella typhimurium	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−	+	+
		Flavobacterium fuscum	−	+	+	+	+	−	−	−	±	−	−	−
		Pseudomonas aeruginosa	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+
		Serratia marcescens	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

卌卄+±−の記号で表わした。この中で，−は全く発育しないもの，±はごく僅かに発育したものを示した。

実　験　結　果

実験 1. 15 種の抗生物質に対する腸球菌その他若干の菌種の感受性の比較

前記 15 種の抗生物質の中より腸球菌の選択培養に応用の可能性のあるものを見出す目的で，腸球菌 8 株，その他のグラム陽性菌 4 株およびグラム陰性菌 7 株について，これら抗生物質に対する感受性を，CYD 寒天を用いて比較観察した。抗生物質の試験濃度は，各菌種の感受性の間に極端な差異があることを予想して，10 倍ずつの 5 段階とした。実験の結果を Table 1 に示した。

Table 1 に示したごとく，ほとんど総ての抗生物質において，グラム陰性菌の多くは腸球菌その他のグラム陽性菌に比して，抵抗性の強いことを認めた。特に *Proteus morganii* および *Serratia marcescens* はほとんどの抗生物質に対して，腸球菌より高い抵抗性を示した。またグラム陽性菌の中では，腸球菌は比較的抗生物質感受性が低く，特にストレプトマイシン，テトラサイクリン，クロルテトラサイクリン，オキシテトラサイクリン，フラジオマイシン，バイオマイシン等でその傾向が明らかに認められた。

実験 2. 腸球菌と其の他のグラム陽性菌の多数菌株についてのペニシリン，ロイコマイシン，オキシテトラサイクリン*感受性の比較

前実験においては，抗生物質の濃度を 10 倍ずつの段階としたので，菌種間における僅少な感受性の差異を見出だすことはできなかつた。ペニシリン，ロイコマイシン，オキシテトラサイクリンに対してはグラム陰性菌は腸球菌に比較して，感受性の小さいことが明らかにされるので一応除外することとし，腸球菌とその他のグラム陽性菌との間に，感受性の差異があるか否かをより詳細に検討するため，前実験の結果よりみて，オ

* テトラサイクリン系の 3 種はほぼ類似の抗菌性を有するのでオキシテトラサイクリンを代表として選んだ。

γ/ml		Bacitracin γ/ml				Gramicidin J γ/ml			Polymixin B γ/ml				Erythromycin γ/ml					Aureothricin γ/ml			
0.1	0.01	100	10	1	0.1	100	10	1	100	10	1	0.1	100	10	1	0.1	0.01	25	10	1	0.1
+	+	−	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+
+	+	−	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+
+	+	−	+	+	+	−	±	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	+	+
+	+	−	+	+	+	−	−	+	−	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−	+	+
+	+	−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+
+	+	−	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−	+	+
+	+	−	−	+	+	−	−	+	±	+	+	+	−	−	−	−	+	−	±	+	+
+	+	±	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	+	+
+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	±	+
+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	+
+	+	−	−	±	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−
+	+	−	−	±	+	−	±	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	±	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
+	+	+	+	+	+	−	−	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+

の差異を見出だすのに好都合と思われるこれら抗生物質の濃度において，多数の腸球菌並びにその他のグラム陽性菌々株の発育を観察し，感受性を比較した。

実験の結果は Table 2 に示したごとくであるが，ペニシリンにおいては，腸球菌とその他の菌種との間に，それ程明瞭な感受性の差異は見られなかつた。ロイコマイシンに対しては，腸球菌の中で type I および II は 0.5γ/ml の濃度で発育し，type III およびほとんど総ての他のグラム陽性菌は，この濃度で発育を阻止された。しかし例外的に *Micrococcus* に属する3株はロイコマイシンの 0.5γ/ml で発育した。オキシテトラサイクリンに対して，一般に腸球菌は他菌種に比較して抵抗性が強く，0.1γ/ml ではほとんど総ての菌株は発育したが，その他のグラム陽性菌では 24 株の中 20 株がその濃度で発育を阻止された。いずれにしても，これら3種の抗生物質における腸球菌と他の菌種との間の感受性の差異は僅少であり，かつそれ程明瞭なものではなかつた。

実験 3. 腸球菌，その他のグラム陽性菌およびグラム陰性菌の多数菌株についてのストレプトマイシン，バイオマイシン，フラジオマイシン感受性の比較

実験1によれば，ストレプトマイシン，バイオマイシン，フラジオマイシンに対する腸球菌の抵抗性は，他のグラム陽性菌のみならず，グラム陰性の大部分の菌株よりも強いことが示されたので，さらに多数の菌株についてこれらの関係を観察した。実験法は実験1および2に準じた。

実験の結果は Table 3 に示したごとくであるが，これら3種の抗生物質に対して，一般に腸球菌は，他の総てのグラム陽性菌および多くのグラム陰性菌よりも抵抗性が大であつた。特にフラジオマイシンの 25～100γ/ml の濃度ではほとんどの腸球菌々株は発育し得たが，他の総てのグラム陽性菌々株は 25γ/ml で，またほとんどのグラム陰性菌は 100γ/ml で発育を阻止された。このようにフラジオマイシンに対して腸球菌はグラム陰性および陽性の全試験菌株の中で，最も大なる抵抗性を示し，特に腸球菌と他のグラム陽性菌々株との間における感受性の差異は大でありかつ明瞭であつた。

Table 2. Sensibility to penicillin, leucomycin and oxytetracycline of many enterococcal strains and the other gram-positive organisms.

Strain / Classification		No.	Penicilline u./*ml* 0.25	Penicilline u./*ml* 0.1	Leucomycin γ/*ml* 0.5	Leucomycin γ/*ml* 0.25	Oxytetracycline γ/*ml* 0.25	Oxytetracycline γ/*ml* 0.1
Enterococci	*Str. faecalis* 8043	E 1	+	+	−	+	−	+
	〃 10541	E 2	+	+	+	+	−	+
	Str. liquefaciens 4532	E 3	+	+	−	+	−	+
	Str. zymogenes 10100	E 4	+	+	−	+	−	+
	Str. durans 9810	E 5	+	+	−	+	−	+
	Type I	Y 20	−	+	+	+	−	+
	〃	Y 46	−	+	+	+	±	+
	〃	Y 137	−	+	+	+	−	+
	〃	Y 85	−	±	+	+	−	+
	〃	N 100	−	+	+	+	±	+
	〃	N 85	±	+	±	+	−	+
	〃	W 26	−	+	+	+	−	+
	〃	T 47	−	+	+	+	−	+
	〃	H 3	−	±	+	+	−	+
	〃	T 34	±	+	+	+	±	+
	〃	T 30	−	+	+	+	±	+
	Type II	Y 82	+	+	+	+	−	+
	〃	Y 161	−	+	+	+	−	+
	〃	K 8	+	+	+	+	−	+
	〃	K 17	+	+	+	+	−	+
	〃	T 21	−	+	+	+	−	+
	〃	N 54	+	+	+	+	−	+
	〃	N 80	+	+	+	+	−	+
	〃	T 36	−	+	+	+	−	+
	〃	T 55	−	+	+	+	−	+
	Type III	T 58	+	+	−	+	−	+
	〃	T 26	+	+	−	+	−	+
	〃	T 12	+	+	−	+	−	+
	〃	H 15	+	+	−	+	−	+
	〃	Y 157	+	+	−	+	−	+
	〃	Y 7	+	+	−	+	−	+
	〃	N 19	+	+	−	+	−	+
	〃	W 7	+	+	−	+	−	+
	〃	K 43	+	+	−	+	−	+
Other gram-positive organisms	*Bacillus brevis*	B 1	−	+	−	+	−	−
	B. subtilis	B 2	−	+	−	+	−	−
	〃	B 3	−	+	−	+	−	−
	〃	B 4	−	+	−	+	+	+
	〃	B 5	−	+	−	+	−	−
	〃	B 6	−	+	−	+	−	−
	〃	B 7	−	+	−	+	−	−
	〃	B 8	+	+	−	+	−	−
	〃	B 9	−	+	−	+	+	+
	〃	B 11	+	+	−	+	−	−
	〃	B 12	+	+	−	+	−	−
	〃	B 13	+	+	−	+	−	−
	〃	B 14	+	+	−	+	−	−
	〃	B 15	−	+	−	±	−	−
	Micrococcus citreus	M 2	−	+	−	+	−	−
	M. piog. var. *aureus*	M 3	−	+	−	+	−	−
	M, epidermidis	M 4	−	−	−	−	−	−
	M. conglomeratus	M 5	+	+	−	+	−	−
	M. varians	M 6	−	−	−	+	−	−
	M. citreus	M 8	−	+	+	+	−	−
	M. piog. var. *albus*	M 9	−	+	+	+	−	+
	M. piog. var. *aureus*	M 10	−	+	−	+	−	−
	〃	M 11	−	−	−	−	−	−
	M. piog. var. *albus*	M 12	−	+	+	+	−	+

Table 3. Comparison of sensibility to streptomycin, viomycin and fradiomycin of many enterococcal strains and the other organisms.

Classification	Strain (Concentration of antibiotic)	No.	Streptomycin γ/ml 100	50	25	Viomycin γ/ml 1000	500	250	Fradiomycin γ/ml 100	50	25
Enterococci	*Str. faecalis* 8043	E 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃 10541	E 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Str. liquefaciens 4532	E 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Str. zymogenes 10100	E 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Str. durans 9810	E 5	±	+	+	+	+	+	−	+	+
	Type I	Y 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	Y 46	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	Y 137	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	Y 85	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	N 100	+	+	+	−	−	−	+	+	+
	〃	N 85	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	W 26	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 47	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	H 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 34	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Type II	Y 82	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	Y 161	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	K 8	+	+	+	+	+	+	−	+	+
	〃	K 17	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 21	+	+	+	±	+	+	+	+	+
	〃	N 54	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	N 80	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 36	+	+	+	−	−	−	+	+	+
	〃	T 55	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Type III	T 58	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 26	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	H 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	Y 157	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	Y 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	N 19	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	N 133	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	W 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	K 43	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Other gram-positive organisms	*Bacillus brevis*	B 1	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	B. subtilis	B 2	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 3	−	−	+	−	−	−	−	−	−
	〃	B 4	−	+	+	−	−	−	−	−	−
	〃	B 5	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 6	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 7	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 8	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 9	−	−	+	−	−	−	−	−	−

Table 3. Continued.

Classification	Strain	No.	Streptomycin γ/ml 100	50	25	Viomycin γ/ml 1000	500	250	Fradiomycin γ/ml 100	50	25
Other gram-positive organisms	*B. subtilis*	B 11	−	−	±	−	+	+	−	−	−
	〃	B 12	−	−	−	−	+	+	−	−	−
	〃	B 13	−	−	−	−	+	+	−	−	−
	〃	B 14	−	−	−	−	+	+	−	−	−
	〃	B 15	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Micrococcus citreus	M 2	−	−	+	−	−	−	−	−	−
	M. piog. var. *aureus*	M 3	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. epidermidis	M 4	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M, conglomeratus	M 5	−	−	−	−	+	+	−	−	−
	M. varians	M 6	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. citreus	M 8	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. piog. var. *albus*	M 9	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. piog. var. *aureus*	M 10	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	M 11	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. piog. var. *albus*	M 12	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Gram-negative organisms	*Protens vulgaris*	Pt 1	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	Pt 2	−	−	−	−	+	+	−	−	+
	〃	Pt 4	−	−	−	−	+	+	−	−	−
	Prot. morganii	Pt 5	+	+	+	+	+	+	−	+	+
	〃	Pt 6	−	−	+	+	+	+	−	−	+
	〃	Pt 7	−	−	−	−	+	+	−	−	+
	Salmonella typhimurium	Sa 1	+	+	+	+	+	+	−	±	+
	Salm. enteritidis	Sa 3	−	−	±	−	+	+	−	±	+
	Salm. gallinarum	Sa 4	+	+	+	+	+	+	±	+	+
	Salm. pullorum	Sa 5	+	+	+	−	+	+	−	−	+
	Achromobacter candicans	Ach 1	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Ach. viscosum	Ach 2	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Flavobacterium deciduosum	Fl 1	−	−	−	−	+	+	−	−	−
	Fl. fuscum	Fl 2	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	Fl 3	−	−	±	−	−	−	−	−	−
	Pseudomonas fluorescens	Ps 2	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Ps. aeruginosa	Ps 4	−	−	−	+	+	+	−	±	+
	〃	Ps 5	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Ps. schuylkilliensis	Ps 7	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Ps. ovalis	Ps 10	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Serratia marcescens	Ser 1	−	−	+	+	+	+	−	+	+
	〃	Ser 2	−	−	+	−	+	+	−	−	[illegible]
Coliform group	Coli I	C 18	−	−	+	+	+	+	−	−	[illegible]
	Coli II	C 123	+	+	+	+	+	+	−	+	+
	Intermediate I	C 60	+	+	+	+	+	+	−	+	+
	Aerogenes I	C 10	−	+	+	+	+	+	+	+	+

Table 4. Comparison of sensibility to colistin between enterococci and coliform organisms.

Strain: Group	Type	No. (Concentration of colistin u./ml →)	30,000	10,000	3,000	1,000	300
Enterococci	I	Y 46	+	+	+	+	+
	〃	Y137	+	+	+	+	+
	〃	N 85	+	+	+	+	+
	〃	Y 20	+	+	+	+	+
	〃	Y 85	±	+	+	+	+
	〃	N100	+	+	+	+	+
	〃	W 26	+	+	+	+	+
	〃	T 47	±	+	+	+	+
	〃	H 3	+	+	+	+	+
	〃	T 34	+	+	+	+	+
	〃	T 30	+	+	+	+	+
	II	E 1	+	+	+	+	+
	〃	E 2	+	+	+	+	+
	〃	Y 82	+	+	+	+	+
	〃	Y161	+	+	+	+	+
	〃	K 8	+	+	+	+	+
	〃	K 17	+	+	+	+	+
	〃	T 21	+	+	+	+	+
	〃	N 54	+	+	+	+	+
	〃	N 80	+	+	+	+	+
	〃	T 36	+	+	+	+	+
	〃	T 55	+	+	+	+	+
	III	E 3	+	+	+	+	+
	〃	T 26	+	+	+	+	+
	〃	K 40	+	+	+	+	+
	〃	T 58	+	+	+	+	+
	〃	T 12	+	+	+	+	+
	〃	H 15	+	+	+	+	+
	〃	Y157	+	+	+	+	+
	〃	Y 7	+	+	+	+	+
	〃	N 19	+	+	+	+	+
	〃	N133	+	+	+	+	+
	〃	W 7	+	+	+	+	+
	〃	K 43	+	+	+	+	+
Coliform group	Coli I	C 18	−	−	−	−	−
	〃	C 22	−	−	−	−	−
	〃	C 50	−	−	−	−	−
	〃	C 54	−	−	−	−	−

Sarain: Group	Type	No. (Concentration of colistin u./ml →)	30,000	10,000	3,000	1,000	300
Coliform group	Coli I	C 65	−	−	−	−	−
	〃	C 76	−	−	−	−	−
	〃	C 82	−	−	−	−	−
	〃	C 87	−	−	−	−	−
	〃	C 88	−	−	−	−	−
	〃	C 91	−	−	−	−	−
	〃	C 96	−	−	−	−	−
	〃	C106	−	−	−	−	−
	〃	C109	−	−	−	−	−
	〃	C110	−	−	−	−	−
	〃	C112	−	−	−	−	−
	〃	C118	−	−	−	−	−
	〃	C133	−	−	−	−	−
	〃	C138	−	−	−	−	−
	〃	C139	−	−	−	−	−
	〃	C140	−	−	−	−	−
	〃	C141	−	−	−	−	−
	〃	C142	−	−	−	−	−
	〃	C143	−	−	−	−	−
	〃	C145	−	−	−	−	−
	〃	C146	−	−	±	±	±
	〃	C148	−	−	−	−	−
	〃	C149	−	−	−	−	−
	〃	C150	−	−	−	−	−
	〃	C151	−	−	−	−	−
	〃	C152	−	−	−	−	−
	Coli II	C123	−	−	−	−	−
	〃	C124	−	−	−	−	−
	Int. I	C147	−	−	−	−	±
	Int. II	C136	−	±	±	±	±
	〃	C137	±	±	±	±	±
	〃	C144	−	−	−	−	−
	〃	C153	−	−	−	−	−
	〃	C154	−	−	−	−	−
	Aerog. I	C 4	−	−	−	−	−
	〃	C 87	−	−	−	−	−
	Aerog. II	C135	−	−	−	−	−
	〃	C155	−	−	−	−	−

実験 4. コリスチンに対する腸球菌と大腸菌群との感受性の比較

コリスチンが大腸菌やサルモネラ菌に対して抗菌性の高いことについては，伊藤等[9]および石橋等[10]の報告がある。実験1において，腸球菌がコリスチンに対してきわめて抵抗性が大であり， それに対し， *Aerobacter aerogenes* および *Salmonella typhimurium* がきわめて感受性の高いことを認めたが， 本抗生物質のごとく腸球菌に比し，大腸菌群に対して著るしく抗菌性の大なることは特異であると考えられるので，多数の腸球菌と大腸菌群の菌株について，CYD 寒天によつてコリスチン感受性の比較観察を行つた。

実験の結果は Table 4 に示したごとくであるが，腸球菌の総ての菌株は 30,000 u/ml においても，発育を阻止されなかつたのに対し，大腸菌群の菌株は例外的な4株を除いて総て 300 u/ml で完全に発育を阻止された。したがつて両菌群の間には一般にコリスチン感受性における著るしい差異のあることを明らかにした。

実験 5. フラジオマイシンを添加した CYD br th における腸球菌およびその他の菌種の発育

以上の実験から，腸球菌の発育を阻害しない濃度で一般のグラム陰性菌の発育を完全に阻止し得るごとき抗生物質を見出だすことはできなかつたが，フラジオマイシン，ストレプトマイシンおよびバイオマイシン等は腸球菌の発育を阻害しない濃度で，他のほとんどのグラム陽性菌の発育を阻止し得た。この中，特にフラジオマイシンは腸球菌を選択的に発育させ得る点で，最も有効な抗生物質であることを認めた。以上の知

Table 5. Bacteriostatic action of fradiomycin in CYD broth upon enterococci and the other organisms.

Classification	Strain	No.	300 (24)	300 (44)	100 (24)	100 (44)	30 (24)	30 (44)	Control (24)	Control (44)
Concentration of fradiomycin γ/ml / Hrs. of incubation			24	44	24	44	24	44	24	44
Enterococci	*Str. faecalis* 8043	E 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	〃 10541	E 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Str. liquefaciens 4532	E 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Str. zymogenes 10100	E 4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Str. durans 9810	E 5	−	±	−	++	+++	+++	+++	+++
	Type Ⅰ	Y 137	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Type Ⅱ	Y 161	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Type Ⅲ	K 40	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Other gram-positive organisms	*Bacillus subtilis*	B 3	−	−	−	−	−	−	++	+++
	〃	B 4	−	−	−	−	−	−	−	+
	〃	B 6	−	−	−	−	−	+	+	++
	Micrococcus citreus	M 8	−	−	−	−	±	±	±	+
	M. piog. var. *albus*	M 9	−	−	−	−	−	+	+	++
Gram-negative organisms	*Proteus vulgaris*	Pt 2	+	+	+	++	+	++	+	++
	Prot. morganii	Pt 5	+	++	+	++	+	++	+	++
	Salmonella gallinarum	Sa 4	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pseudomonas aeruginosa	Ps 4	−	±	±	+	+	++	+	++
	Serratia marcescens	Ser 1	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++
	Coliform group: Coli Ⅰ	C 146	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Coliform group: Int. Ⅱ	C 136	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Coliform group: Aerog. Ⅰ	C 4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

見はCYD寒天培地におけるものであるが，実際に選択培地に応用する目的には，主としてCYD brothに添加した場合の腸球菌選択効果が問題であるので，CYD brothにフラジオマイシンを300, 100, 30γ/mlの濃度に添加した培地における腸球菌およびその他の菌種の発育の如何を観察した。

実験の結果はTable 5に示したごとくであるが，*Str. durans* の1株は別として，一般の腸球菌々株は300γ/mlのフラジオマイシンで全く発育を阻害されなかつた。またグラム陰性菌も腸球菌とほとんど同様のフラジオマイシン抵抗性を有することを示した。これに対し，*Bacillus* および *Micrococcus* に属するグラム陽性菌々株は30〜100γ/mlで完全に発育を阻止された。

考　　察

一般にグラム陰性菌はグラム陽性菌に比較して，諸種の制菌剤に対する感受性が低いとされている。本研究で使用した抗生物質においても，やはりグラム陰性菌の中には，腸球菌その他のグラム陽性菌よりも抵抗性の大なるものが多く，結局腸球菌の選択培養の目的でグラム陰性菌の発育を阻止し得るごとき抗生物質を見出だすことはできなかつた。しかし大腸菌群はコリスチン感受性が大であり，反対に腸球菌は小であり，その差は特に著るしいので，これら両菌群の混在するような場合，腸球菌のみを選択培養するごとき特殊な目的にはコリスチンの利用は有効であろう。一般に腸球菌は他のグラム陽性菌に比較して，制菌剤に対する抵抗性が大なるものとされているが，本研究の結果からもストレプトマイシン，バイオマイシン，フラジオマイシン，オキシテトラサイクリン等において明らかにその傾向を認めたが，フラジオマイシンの場合特に明瞭であり，腸球菌々株は他のグラム陽性の総ての供試菌株よりも遙かに抵抗性が大であり，腸球菌の選択培地に応用し得る最も有効な抗生物質と考えられる。勿論フラジオマイシンに対する感受性において，多くのグラム陰性菌は腸球菌とそれ程明瞭な差異を有しないから，完全な腸球菌選択培地を得るためにはグラム陰性菌の発育を阻止するのに有効な他の制菌剤と併用する必要がある。Table 5に示したように，CYD brothではフラジオマイシンの制菌効果は低下し，300γ/mlでもグラム陰性菌の発育を阻止できず，他のグラム陽性菌の発育を阻止するためにも100γ/mlまたはそれ以上の濃度が必要となるであろう。一般に腸球菌群に属する菌株の間には，抗生物質に対する感受性における著るしい差異はほとんど見られないが，ただエリスロマイシンにおいて菌株間にかなりの差異が認められた。またTable 5に示したごとく，*Str. durans* のみはフラジオマイシンに対し感受性が特に大であり，本菌種の特異性を示した。腸球菌の菌型と抗生物質感受性との間における興味ある関係をロイコマイシンの場合に見出だすことができた。すなわち3種のtypeの中でtype Ⅲのみが0.5γ/mlで発育を阻止された。このようにロイコマイシンに対し比較的感受性の大なる点もまた，type Ⅲを他のtypeから区別する特性の一つとして追加することができよう。堀江[8]はブドウ糖寒天を基礎培地とした場合，ストレプトマイシンおよびクロルテトラサイクリンに対する感受性と腸球菌の菌型との間に，有意義な関係のあることを報告したが，本実験においては，これらの関係はみられなかつたばかりでなく，これら両抗生物質の最小発育阻止濃度においても，ブドウ糖寒天の場合とかなり異なる結果を得た。これらの両実験結果の不一致は主として基礎培地として用いたブドウ糖寒天とCYD寒天との組成の差異に起因するものと考えられる。

摘　　要

腸球菌と他のグラム陽性菌およびグラム陰性菌との種々の抗生物質に対する感受性を，citrate yeast dextrose (CYD) 寒天平板を基礎培地として比較した。グラム陽性菌の中で，腸球菌はフラジオマイシン，ストレプトマイシン，バイオマイシン，オキシテトラサイクリン等に比較的大なる抵抗性を示したが，特にフラジオマイシン抵抗性において腸球菌は特異的で，25γ/mlの濃度で他の総てのグラム陽性菌の発育は阻止されたのに対し，腸球菌は100γ/mlですら発育した。またグラム陽性菌の中から腸球菌のみを選択培養する目的には，CYD brothの場合100γ/ml以上のフラジオマイシンを添加する必要があるであろうことを認めた。また一方，腸球菌の発育を阻害しない濃度で，諸種のグラム陰菌を制菌し得る抗生物質は見出だされ

なかつた。腸球菌と大腸菌群とのコリスチン感受性には著るしい差異があり，CYD 寒天で腸球菌は30,000 u/ml の濃度においても発育し得たが，ほとんどの大腸菌群菌株は 300 u/ml で発育を阻止された。腸球菌の菌型とロイコマイシン感受性との間には興味ある関係がみられ，CYD 寒天における 0.5 γ/ml の濃度では，type Ⅲ のみが制菌された。

終りに臨み，菌株並びに抗生物質を分与して頂いた方々に，厚く感謝の意を表する。また本研究の遂行に協力された野原照子氏に深く感謝する。なお本研究の一部は文部省科学研究費によつた。附記して謝意を表する。

文　　献

1) Fleming, A.: *J. Path. Bact.*, **35**, 831 (1932).
2) Bornstein, S.: *J. Bact.*, **39**, 383 (1940).
3) Neter, E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **43**, 774 (1940).
4) Hajna, A. A. and Perry, C. A.: *Am. J. Pub. Health*, **33**, 550 (1943).
5) Difco manual of dehydrated culture media and reagents, 9th ed., p. 50, (1953).
6) Litsky, W., Mallmann, W. L. and Fifield, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **43**, 873 (1953).
7) 堀江　進: 本誌, **26**, 39 (1960).
Horie, S.: This Bull., **26**, 39 (1960).
8) 堀江　進: 本誌, **25**, 488 (1959).
9) 伊藤泰一他: *J. Antibiot., Ser. B*, **7**, 147 (1954).
10) 石橋近重他: *J. Antibiot., Ser. B*, **7**, 183 (1954).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—VI.
腸球菌と他の菌種との色素に対する感受性の比較

堀江　進・関根　隆

(1959 年 9 月 3 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—VI.
COMPARISON OF SENSIBILITY TO VARIOUS DYES BETWEEN ENTEROCOCCI AND OTHER ORGANISMS

Susumu HORIE and Yutaka SEKINE*

The sensibilities of enterococci and other organisms to various dyes or sodium azide added in citrate yeast dextrose agar were mutually compared. Eight kinds of triphenylmethane dyes, five kinds of acridine dyes and methylene blue were used in this study. Gram-negative organisms were found to be more resistant to triphenylmethane dyes than gram-positive ones. As a whole, among the gram-positive organisms so far examined, enterococci showed the highest resistance to these triphenylmethane dyes. Enterococci were clearly distinguished from other gram-positive organisms in their particularity of high resistance to ethyl violet and crystal violet. As to the sensibility to acridine dyes or methylene blue, no appreciable difference was found between different groups of organisms. On the other hand, it was shown that enterococci were characterized by their high resistance to sodium azide among all gram-negative and gram-positive organisms examined. A combination of sodium azide and ethyl violet as inhibitory agent, as presented by LITSKY and others, may be most suitable to be used in the medium for selective cultivation of enterococci.

緒　　言

衛生細菌学の分野においては，細菌の分離検出の目的で色素を利用した培地は多数知られている。塩基性トリフェニルメタン色素は一般に強力な抗菌性を有すが，特にグラム陰性菌に比較してグラム陽性菌に対して抗菌力が大であり，このような抗菌性の差がグラム陰性菌の撰択培養に利用されている。この点については塩基性フクシンの制菌性に関する RITTER[1] の観察，エチルバイオレット，クリスタルバイオレット，ブリリアントグリーンについての LITSKY 等[2]の研究がある。さらにまた，グラム陽性菌々種の間における色素感受性の差異を利用し，NaN_3 のごときグラム陰性菌に対する制菌剤と色素との併用により，特定のグラム陽性菌の撰択培地が研究されている[3,4]。

著者は前報[5] において抗生物質について報告したと同様，腸球菌検出培地に利用しうるより適当な制菌剤を探索する目的で，トリフェニルメタン，アクリジン，チアジン系に属する 14 種の色素および NaN_3 について，腸球菌と他の菌種との感受性を比較検討したので，その結果を報告する。

実験材料および方法

1. 実験に用いた色素および NaN_3

下記の 14 種の色素の他に比較研究のため NaN_3 を用いた。括弧の中に製造元を記載した。

トリフェニルメタン系色素：　マラカイトグリーン蓚酸塩 (東京化成)，ブリリアントグリーン (Merck)，パラローザニリン塩酸塩 (東京化成)，ローザニリン塩酸塩 (東京化成)，クリスタルバイオレット (Merck).

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

Table 1. Comparison of sensibility to various dyes and

Organism		Concentration of dye or NaN_3 γ/ml	Malachite green				Brilliant green				Pararosa-nilin			Rosanilin		
			100	10	1	0.1	100	10	1	0.1	100	10	1	100	10	1
Enterococci	Strains of ATCC	*Str. faecalis* 8043	−	−	±	+	−	−	±	+	−	+	+	−	+	+
		〃 10541	−	−	−	+	−	−	±	+	−	+	+	−	+	+
		Str. liquefaciens 4532	−	−	±	+	−	−	+	+	−	+	+	−	+	+
		Str. zymogenes 10100	−	−	±	+	−	−	+	+	−	±	+	−	+	+
		Str. durans 9810	−	−	±	+	−	−	+	+	−	+	+	−	+	+
	Own strains	Y 137 (type Ⅰ)	−	−	±	+	−	−	±	+	−	±	+	−	+	+
		Y 161 (type Ⅱ)	−	−	±	+	−	−	±	+	−	+	+	−	+	+
		K 40 (type Ⅲ)	−	−	±	+	−	−	+	+	−	±	+	−	+	+
Other gram-positive organisms		*Bacillus brevis*	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	+
		B. subtilis	−	−	−	±	−	−	−	+	−	−	+	−	−	+
		Micrococcus piog. var. *aureus*	−	−	−	+	−	−	−	+	−	+	+	−	+	+
		M, citreus	−	−	−	+	−	−	−	+	−	+	+	−	±	+
		M. piog. var. *albus*	−	−	−	+	−	−	+	+	−	+	+	−	−	+
Gram-negative organisms		*Escherichia coli*	−	±	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+
		Aerobacter aerogenes	−	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Proteus vulgaris	−	−	±	+	−	−	+	+	+	+	+	−	+	+
		Prot. morganii	−	+	+	+	−	±	+	+	+	+	+	+	+	+
		Salmonella typhimurium	−	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Flavobacterium fuscum	−	−	−	±	−	−	±	+	−	+	+	−	−	+
		Pseudomonas schuylkilliensis	−	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Ps. aeruginosa	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Serratia marcescens	−	+	+	+	−	±	+	+	+	+	+	+	+	+

エチルバイオレット (Beyer), メチルグリーン (東京化成), ヨードグリーン (東京化成)。 アクリジン系色素: アクリジンイェロウ (東京化成), アクリジンオレンジ (東京化成), アクリフラビン (武田薬品), アクリノール (東京化成), コリホスフィン O (東京化成)。チアジン系色素: メチレンブルー (Merck), NaN_3 (和光純薬)。

2. 供試菌株

前報[5)]に記載したごとくである。

3. 色素および NaN_3 に対する感受性の観察実験

前報における抗生物質についての実験法に準じ，CYD 寒天*平板培地を用いて行つたが，ただ抗生物質の場合と異り，24 および 48 時間培養の2回観察し，24 時間で発育したものを +，24 時間で発育が著しく阻害されたもの，並びに 48 時間ではじめて程度の如何を問わず発育を示したものを +，48 時間培養後なお発育の見られなかつたものを − として結果を表示した。

実 験 結 果

実験 1. 14 種の色素および NaN_3 に対する腸球菌，その他若干の菌種の感受性の比較

前記 14 種の色素の中より，腸球菌の選択培養に応用の可能性のあるものを撰びだす目的で，腸球菌 8 株，

* citrate yeast dextrose 寒天。

NaN_3 between enterococci and the other organisms.

Crystal violet				Ethyl violet			Methyl green		Iodine green		Acridine yellow			Acridine orange		Acriflavin			
100	10	1	0.1	100	10	1	100	10	100	10	100	10	1	100	10	100	10	1	0.1
−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	±	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
−	−	±	+	−	−	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	+	+	−	−	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+	−	−	+	+	+	−	−	−	±
−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+	−	−	+	+	+	−	−	−	±
−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+	−	+	+	+	+	−	−	+	+
−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
−	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+	−	+	+	+	+	−	−	±	+
−	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	−	±	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

その他のグラム陽性菌5株およびグラム陰性菌9株について，これら色素および NaN_3 に対する感受性をCYD 寒天を用いて比較観察した。各試験濃度は，一般に，100, 10, 1, 0.1γ per ml の4段階としたが，メチレンブルーおよび NaN_3 のみは 1000, 100, 10, 1γ per ml とした。

実験の結果は Table 1 に示すごとくであつて，グラム陰性菌，腸球菌，その他のグラム陽性菌の間には一般に，トリフェニルメタン系色素およびメチレンブルーに対する感受性の差異が見られた。すなわち，腸球菌は3者の中の，中間的感受性を示し，多くのグラム陰性菌より感受性が大であり，他のグラム陽性菌よりも小であつた。もつとも，パラローザニリンおよびエチルバイオレット等の場合，今回の試験濃度では，腸球菌と他のグラム陽性菌との間の感受性の差異は見出だされなかつた。一方，アクリジン系色素においては，上記のごとき菌群の間の感受性の差異は示されなかつた。NaN_3 の抗菌性は，以上の色素類と全く趣きを異にし，腸球菌はグラム陰性菌および他のグラム陽性菌よりも遥かに大なる抵抗性を示し，NaN_3 が腸球菌の撰択培養に特に重要な価値をもつ制菌剤であることを示唆した。

実験 2. 7種の色素に対する腸球菌と他のグラム陽性菌との感受性の差異

実験1の結果，並びに，従来の研究より考慮し，腸球菌以外のグラム陽性菌に対する制菌効果の点から，マラカイトグリーン，ローザニリン，クリスタルバイオレット，エチルバイオレット，メチルグリーン，ヨードグリーン，メチレンブルーの7種に着目し，これらの色素に対する，腸球菌と他のグラム陽性菌との感受性の差異を明らかにするため，さらに若干の菌株を追加し，より小範囲の適当な濃度で，実験1と同様の

Table 1. Continued.

Organism		Concentration of dye or NaN_3 γ/ml	Acrinol				Coriphosphine O		Methylene blue				NaN_3			
			100	10	1	0.1	100	10	1000	100	10	1	1000	100	10	1
Enterococci	Strains of ATCC	*Str. faecalis* 8043	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	±	+	+	+
		〃 10541	+	+	+	+	+	+	−	±	+	+	±	+	+	+
		Str. liquefaciens 4532	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	±	+	+	+
		Str. zymogenes 10100	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	±	+	+	+
		Str. durans 9810	±	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+	+	+
	Own strains	Y 137 (type Ⅰ)	−	+	+	+	+	+	−	±	+	+	±	+	+	+
		Y 161 (type Ⅱ)	+	+	+	+	+	+	−	±	+	+	±	+	+	+
		K 40 (type Ⅲ)	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	±	+	+	+
Other gram-positive organisms		*Bacillus brevis*	−	+	+	+	−	+	−	−	−	+	−	−	−	+
		B. subtilis	−	−	±	+	±	+	−	−	+	+	−	−	−	+
		Micrococcus piog. var. *aureus*	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+	+	+
		M. citreus	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	+	+
		M. piog. var. *albus*	−	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	+	+
Gram-negative organisms		*Escherichia coli*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
		Aerobacter aerogenes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
		Proteus vulgaris	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	+	+
		Prot. morganii	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	−	−	+	+
		Salmonella typhimurium	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
		Flavobacterium fuscum	±	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	+	+
		Pseudomonas schuylkilliensis	−	+	+	+	+	+	±	+	+	+	−	−	±	+
		Ps. aeruginosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	±	+
		Serratia marcescens	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+

観察を行つた。

実験の結果を Table 2 に示したが，マラカイトグリーン，ローザニリン，メチレンブルーでは，腸球菌と他菌種との感受性の差異は不明瞭であつて，メチルグリーンの場合やや明瞭であり，クリスタルバイオレット，エチルバイオレット，ヨードグリーンでは，かなり明瞭な差異の存することを認めた。クリスタルバイオレットの 1γ per ml の濃度では，総ての他菌種の発育は阻止され，一方，腸球菌々株は何れも発育しえたが，若干の菌株において発育の阻害が見られた。エチルバイオレット 2γ per ml では，腸球菌は発育を阻害されることなく，一方，他の菌種は，*B. subtilis* の 1 株を除いて，総て制菌された。ヨードグリーンの制菌効果は，その傾向において，エチルバイオレットの場合に極めて類似しているが，同じ制菌効果をうるために，エチルバイオレットよりも遙かに高い濃度を要することが認められた。

実験 3. 腸球菌と他の菌種とのエチルバイオレット，クリスタルバイオレット，NaN_3 感受性についての，さらに詳細な比較

前述のごとく，ヨードグリーンはエチルバイオレットに比較し，抗菌力が著しく弱いので，結局，グラム陽性菌に対する制菌剤として，腸球菌撰択培養に利用する点では，クリスタルバイオレット若しくはエチルバイオレットが最も優れた色素であり，また一方，NaN_3 はグラム陰性菌に対する重要な制菌剤であることを認めた。以上の観察では，比較的少数の菌株しか用いておらぬので，次に，より多数の腸球菌および他のグラム陽性菌株について，クリスタルバイオレット，エチルバイオレットおよび NaN_3 に対する感受性を，

Table 2. Differences of sensibility to seven kinds of dyes between enterococci and the other gram-positive organisms.

Strain	Classification (Concentration of dye γ/ml)	No	Malachite green 0.4	Malachite green 0.2	Rosanilin 40	Rosanilin 20	Crystal violet 2	Crystal violet 1	Crystal violet 0.4	Ethyl violet 4	Ethyl violet 2	Ethyl violet 1	Methyl green 100	Methyl green 40	Iodine green 200	Iodine green 100	Iodine green 40	Methylene blue 40	Methylene blue 20
Enterococci	*Str. faecalis* 8043	E 1	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃 10541	E 2	−	±	−	−	±	+	+	±	+	+	+	+	−	+	+	+	+
	Str. liquefaciens 4532	E 3	+	+	−	−	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Str. zymogenes 10100	E 4	±	+	−	−	±	±	+	−	+	+	+	+	±	+	+	+	+
	Str. durans 9810	E 5	+	+	−	−	−	+	+	±	+	+	+	+	±	+	+	−	+
	Type I	Y 46	±	±	±	±	−	±	+	±	+	+	±	+	±	+	+	±	+
	〃	Y 137	±	+	−	−	−	±	+	±	+	+	±	+	±	+	+	±	+
	〃	N 85	±	±	−	−	−	+	+	±	+	+	±	+	±	+	+	+	+
	Type II	Y 82	±	+	±	±	±	+	+	±	+	+	+	+	±	+	+	+	+
	〃	Y 161	±	+	±	±	−	+	+	−	+	+	±	+	−	+	+	±	+
	Type III	T 26	±	±	−	−	−	±	+	−	+	+	±	+	−	+	+	+	+
	〃	K 40	+	+	−	±	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Other gram-positive organisms	*Bacillus brevis*	B 1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	±	−	−	±	−	−
	B. subtilis	B 4	−	−	−	−	−	−	+	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+
	〃	B 11	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	±	−	−	+	±	+
	〃	B 12	−	−	−	−	−	−	±	−	−	+	−	±	−	−	±	±	±
	〃	B 13	−	−	−	−	−	−	±	−	−	+	−	±	−	−	+	±	±
	Micrococcus citreus	M 2	+	+	−	−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	−	+	+	+
	M. piog. var. *aureus*	M 3	±	+	−	−	−	−	+	−	−	±	−	±	−	−	+	−	±
	M. varians	M 6	±	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. piog. var. *albus*	M 9	±	±	−	−	−	−	±	−	−	+	−	+	−	−	+	+	+
	M. piog. var. *aureus*	M 10	±	±	−	−	−	−	±	−	−	+	−	+	−	−	+	+	+

Table 3. Comparison of sensibility to ethyl violet, crystal violet and NaN_3 of many enterococcal strains and the other gram-positive organisms.

Classification	Strain	No.	Ethyl violet (Concentration of dye or NaN_3 γ/ml)				Crystal violet			NaN_3			
			3	2.5	2.0	1.5	1	0.8	0.6	400	200	100	50
Enterococci	*Str. faecalis* 8043	E 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃 10541	E 2	±	±	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	Str. liquefaciens 4532	E 3	±	±	+	+	+	+	+	±	±	+	+
	Str. zymogenes 10100	E 4	±	±	+	+	±	+	+	±	±	+	+
	Str. durans 9810	E 5	+	+	+	+	+	+	+	−	±	+	+
	Type I	Y 20	+	+	+	+	+	+	+	−	±	±	+
	〃	Y 46	±	±	+	+	±	±	+	−	±	±	±
	〃	Y137	+	+	+	+	±	+	+	−	±	+	+
	〃	Y 85	±	±	+	+	±	±	+	−	±	±	±
	〃	N100	+	+	+	+	±	+	+	±	±	±	+
	〃	N 85	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+
	〃	W 26	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+
	〃	T 47	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	〃	H 3	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	+
	〃	T 34	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+
	〃	T 30	+	+	+	+	+	+	+	−	±	±	±
	Type II	Y 82	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	〃	Y161	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+
	〃	K 8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	K 17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	〃	T 21	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+
	〃	N 54	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	〃	N 80	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	〃	T 36	±	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	〃	T 55	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	Type III	T 58	±	±	±	±	±	+	+	−	±	±	+
	〃	T 26	±	±	+	+	±	+	+	−	±	±	±
	〃	T 12	+	+	+	+	+	+	+	−	±	±	+
	〃	H 15	±	±	+	+	+	+	+	−	±	±	+
	〃	Y157	+	+	+	+	+	+	+	−	±	±	+
	〃	Y 7	+	+	+	+	+	+	+	−	±	±	+
	〃	N 19	±	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
	〃	N133	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+
	〃	W 7	±	±	+	+	+	+	+	−	±	±	+
	〃	K 43	+	+	+	+	+	+	+	−	±	+	+
Other gram-positive organisms	*Bacillus subtilis*	B 2	−	±	+	+	−	+	+	−	−	−	−
	〃	B 3	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 4	±	±	+	+	−	±	+	−	−	−	−
	〃	B 5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 6	−	±	±	±	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 7	−	−	−	+	−	±	+	−	−	−	−
	〃	B 8	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 9	−	−	±	+	−	±	+	−	−	−	−
	〃	B 11	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 12	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 13	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 14	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	〃	B 15	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Micrococcus citreus	M 2	−	−	−	±	−	−	−	−	−	±	±
	M. piog. var. *aureus*	M 3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±	±
	M. epidermidis	M 4	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. conglomeratus	M 5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. varians	M 6	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	M. citreus	M 8	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±	+
	M. piog. var. *albus*	M 9	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
	M. piog. var. *aureus*	M 10	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+
	M. piog. var. *albus*	M 12	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+

Table 4. Sensibility to NaN_3 of gram-negative organisms.

Strain: Classification	No.	Concentration of NaN_3 γ/ml: 400	200	100	50
Proteus vulgaris	Pt 1	−	−	−	−
〃	Pt 4	−	−	−	−
Prot. morganii	Pt 5	−	−	+	+
〃	Pt 6	−	−	±	+
〃	Pt 7	−	−	±	+
Salmonella typhimurium	Sa 1	−	−	−	−
Salm. enteritidis	Sa 3	−	−	−	−
Salm. gallinarum	Sa 4	−	−	−	±
Salm. pullorum	Sa 5	−	−	−	−
Achromobacter viscosum	Ach2	−	−	−	−
Flavobacterium deciduosum	Fl 1	−	±	+	+
Fl. fuscum	Fl 2	−	−	±	+
〃	Fl 3	−	−	−	−
Pseudomonas fluorescens	Ps 2	−	−	−	−
Ps. aeruginosa	Ps 4	−	−	−	−
〃	Ps 5	−	−	−	−

Strain: Classification		No.	Concentration of NaN_3 γ/ml: 400	200	100	50
Ps. schuylkilliensis		Ps 7	−	−	−	−
Ps. ovalis		Ps 10	−	−	−	−
Serratia marcescens		Ser 1	−	−	−	−
〃		Ser 2	−	−	−	−
Coliform group	Coli I	C 91	−	−	−	−
	〃	C 138	±	±	±	±
	〃	C 139	−	−	−	−
	〃	C 140	−	−	−	−
	〃	C 145	−	−	−	−
	〃	C 151	−	−	−	−
	Intermediate I	C 147	−	−	−	−
	Intermediate II	C 137	−	±	±	±
	〃	C 153	−	−	−	−
	Aerogenes I	C 4	−	−	−	−
	Aerogenes II	C 135	−	−	−	±
	〃	C 155	−	−	−	−

より詳細に比較観察した。なお NaN_3 に対するグラム陰性菌の感受性をも同時に観察した。実験の結果を Table 3 および 4 に示した。

エチルバイオレットの 2γ per ml では，腸球菌はほとんど発育を阻害されないが，*Bacillus* に属する5株の発育を許した。濃度を 2.5 および 3γ per *ml* に増すると，他菌種に対する制菌効果は向上するが，腸球菌の発育に若干の阻害が見られた。クリスタルバイオレットの 0.6γ per *ml* では腸球菌の発育は阻害されないが，*Bacillus* に属する4株の発育を許した。濃度を 1γ per ml に増大すると，*Bacillus* に属する総ての菌株の発育を阻止したが，腸球菌も若干発育を阻害された。NaN_3 の 50γ per *ml* では，腸球菌はほとんど発育を阻害されることなく，*Bacillus* に属する全菌株，*Micrococcus* の一部の菌株およびグラム陰性の多くの菌株は制菌された。濃度を 200γ per *ml* に増大すると，腸球菌は若干発育を阻害されるが，グラム陽性の全菌株およびほとんどのグラム陰性菌株は制菌された。400γ per *ml* では腸球菌の中の数株も発育を阻止された。

考　　察

腸球菌撰択培地に利用する目的で，最も好適な制菌剤を探索することを主眼として，トリフェニルメタン系並びにアクリジン色素，メチレンブルーおよび NaN_3 等について検討した。使用した色素の純度を明らかにしていないが，本研究においては，発育阻止濃度を求めるのが目的ではなく，菌種間の感受性の差異を検討することを主眼としたので，特に問題はないものとして取扱つた。一般に，グラム陰性菌は制菌剤に対し抵抗性が大であるといわれており，前報に述べたごとく，著者等も抗生物質についてこの傾向を認めたが，今回取扱つた色素類においても，グラム陽性菌に比較し，グラム陰性菌に対し抗菌力の大なるものは見出だされなかつた。したがつて，これらの色素は腸球菌の撰択培養の目的で，グラム陰性菌の発育抑制剤としての価値はないものと認めた。このような目的のために，従来 NaN_3 が用いられているが，今回の観察の結果によつても，NaN_3 は腸球菌の発育可能の濃度で一般のグラム陰性菌の発育を阻止しうる点で，きわめて貴重な存在であることを確認した。また NaN_3 はグラム陰性菌のみならず，腸球菌以外のグラム陽性菌に対し

ても，かなりの制菌力を有し，特に *Bacillus* に属する全菌株を 50γ per m*l* で制菌し，200γ per m*l* では，特異的に腸球菌のみの発育を許し，他の総てのグラム陽性菌を制菌した。このようにグラム陰陽両性の菌種に亘り制菌力を有する点で，NaN_3 の価値はさらに高く評価さるべきものである。色素類の中で，エチルバイオレット，クリスタルバイオレット，ヨードグリーンに対する感受性において，腸球菌と他のグラム陽性菌との間に，かなり明瞭な差異が見られた。この中，ヨードグリーンは前2者に比較し，抗菌力が遙かに弱いので一応除外し，エチルバイオレット，クリスタルバイオレットについて細かい検討をした。エチルバイオレット，クリスタルバイオレットは腸球菌の発育可能の濃度で，ほとんどの他のグラム陽性菌の発育を阻止した。もつとも，*Bacillus* に属する数株は両色素にやや抵抗性を示した。以上の事実に基ずき，NaN_3 とエチルバイオレットまたはクリスタルバイオレットを併用することにより，腸球菌撰択性のかなり高い培地を得る可能性が考えられる。Table 3 に示したごとく，NaN_3 の制菌力は *Micrococcus* のある菌株にやや弱く，一方両色素の制菌力は *Bacillus* のある菌株に対し，やや弱いことが認められたが，これらを併用することにより両者の弱点は相殺されるであろう。NaN_3 と併用する色素として，エチルバイオレットとクリスタルバイオレットとのいずれが優れているかの判断は，本研究の結果からでは困難であるが，LITSKY 等[4] はこの点を実際的に検討し，エチルバイオレットを最も優れているものとして採用している。結局，NaN_3 とエチルバイオレットとを併用した LITSKY 等の腸球菌検出培地は，制菌剤の組合わせの点では，一応優れたものと考えてよいであろう。

摘　　要

腸球菌と，他のグラム陽性菌およびグラム陰性菌との，種々の色素および NaN_3 に対する感受性を，CYD 寒天平板培地を基礎培地として比較した。トリフェニルメタン系の8種，アクリジン系の5種の色素およびメチレンブルーについて検討したが，グラム陽性菌よりもグラム陰性菌に対し強い制菌力を有する色素を見出だすことはできなかつた。一般に，腸球菌のトリフェニルメタン系色素に対する感受性は，グラム陰性菌よりも大であり，他のグラム陽性菌よりも，小なる傾向を示したが，アクリジン系色素では，これら菌群の間の感受性の差異は不明瞭であつた。特にエチルバイオレットおよびクリスタルバイオレットについて細かく検討したところ，これらの色素は，腸球菌の発育可能の濃度で，他のグラム陽性のほとんどの菌株の発育を阻止した。また一方，NaN_3 に対して，腸球菌は特異的に大なる抵抗性を有し，ほとんど総てのグラム陰性並びに陽性の菌株を制菌するごとき NaN_3 の濃度において，腸球菌のみ発育しえた。以上の実験結果より，腸球菌撰択培地には NaN_3 とエチルバイオレットまたはクリスタルバイオレットとの併用が，比較的有効であろうと考察した。

終りに臨み，本研究の遂行に協力された野原照子氏に深く感謝の意を表する。なお本研究の一部は文部省科学研究費によつた。附記して謝意を表する。

文　　献

1) RITTER, C.: *Am. J. Pub. Health*, **30**, 59 (1940).
2) LITSKY, W., MALLMANN, W. L., and FIFIELD, C. W.: *Stain Technol.*, **27**, 229 (1952).
3) PACKER, R. A.: *J. Bact.*, **46**, 343 (1943).
4) LITSKY, W., MALLMANN, W. L., and FIFIELD, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **43**, 873 (1953).
5) 堀江　進・関根　隆: 本誌, **26**, 149 (1960).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—VII.
改良腸球菌検査法

堀 江 進

(1959 年 10 月 15 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—VII.
AN IMPROVED METHOD FOR ENTEROCOCCAL TEST

Susumu HORIE*

Although there are several methods for determining the population of enterococci in water and food, no method accurate and reliable from the practical standpoint has yet been established. In order to improve the method for enterococcal test, the author investigated on the selective action of some inhibitory agents and incubation temperature on enterococci medium. From the result of these works, it was shown that high selectivity of confirmatory medium for enterococci can be obtained by the use of some inhibitory agents in combination with incubation temperature at 45°C. Then a new improved method for enterococcal test was devised wherein azide yeast dextrose broth (AYD broth) containing 0.02% sodium azide is used as a presumptive broth and ethyl violet azide citrate broth (EAC broth) containing 0.000012% ethyl violet, 0.025% sodium azide and 1% Na-citrate·$2H_2O$ as a confirmatory medium. This method consists of transferring a loopful of culture from a AYD broth tube at 37°C. to a EAC broth tube at 45°C. Since this confirmatory medium, EAC broth is highly specific for enterococci at 45°C., the MPN value of enterococci may in general be determined immediately from the number of positive confirmatory test tubes without laborious procedure in complete test. A modified method in which lactose broth was used in place of AYD broth as presumptive medium in the above-mentioned method was also found to be an excellent one.

緒言ならびに文献

食品，水等の汚染指標として，腸球菌は大腸菌群よりも種々の点において優れているものとされ，近年特に重要視されるに至つた。しかしながら，大腸菌群の検査法が一応確立されているのに対し，腸球菌検査法については従来多くの報告があるにもかかわらず，現在なお正確度の高い信頼のおける方法は見出だされていない。腸球菌の検査法を確立する上には，まず第一に本菌検出のための優れた撰択培地が必要な事はもちろんである。培地の撰択性は撰択的に他種細菌の発育を阻止し得る適当な制菌剤の添加によつて与えられるものであり，腸球菌撰択培地の研究の歴史もまた一面，このような制菌剤に関する研究の進展と見ることができるであろう。BAGGER (1926)[1]は糞便連鎖球菌の撰択培養に牛胆汁を利用しており，FLEMING (1932)[2]は potassium tellurite に対し，腸球菌は撰択的に抵抗性の大なることを報告している。1940 年 MALLMANN[3] はグラム陰性菌に対する制菌剤として sodium azide (NaN_3) をはじめて液体培地に使用した。NaN_3 の制菌作用については，SNYDER 等[4]，MALLMANN 等[5]，LICHSTEIN 等[6]，PACKER[7]その他によつて研究されているが，腸球菌撰択培地における NaN_3 の応用は汚染指標としての本菌研究の発展において，その意義はきわめて重要である。HAJNA および PERRY (1943)[8] は SF medium を発表したが，本培地には

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

NaN_3 を 0.05% 使用し，かつ 45.5°C の培養温度を用いており，本培地に発育し酸を生成した場合はほとんど確実に腸球菌の存在を示すものと述べている。WINTER および SANDHOLZER (1946) の腸球菌検出培地については Difco manual[9] に記載されているが，彼等の sodium azide presumtive broth と penicillin methylene blue sodium chloride broth slant confirmation medium には，NaN_3 がそれぞれ 0.04% 用いられ，さらに推定試験培地では培養温度を 45°C とし，確認試験培地では，ペニシリン，メチレンブルー，NaCl 等を添加することにより培地の撰択性を高め，かつ broth における発育とともに斜面上にも集落を形成させるごとく工夫されている。一方連鎖球菌の分離用平板培地については CHAPMAN (1944)[10] の報告がある。MALLMANN 等 (1950)[11] は水や下水の連鎖球菌検出培地として，lactose broth, azide broth (MALLMANN), SF broth (HAJNA and PERRY) および azide dextrose broth (ROTHE) 等についての比較研究を行い，連鎖球菌の測定値は azide dextrose broth において最高値を示し，SF broth が最小値を示したことを観察し，azide dextrose broth の優秀性を認めたが，しかしまた，本培地はグラム陽性の桿菌の発育を完全には阻止し得ないことをも指摘している。斎藤 (1952)[12] は NaN_3 による糞便連鎖球菌の分離について研究し，NaN_3 の撰択的制菌力と培地の pH との関係を検討し，pH 7.8 ではグラム陰性菌を淘汰し得ないが，pH 7.0 または 6.5 では NaN_3 の 3000 倍稀釈の濃度でグラム陰性菌を完全に制菌し，グラム陽性菌の発育を許すと報告している。また同氏は EMB 培地に 0.02% の NaN_3 と 0.0005% のクリスタルバイオレットを添加した培地は糞便連鎖球菌の分離平板培地として適当であると述べている。LITSKY (1952) 等[13]はエチルバイオレット及びクリスタルバイオレットが撰択的にグラム陽性菌を制菌し得ることを観察しているが，彼ら (1953)[14] はこれらの色素に対する腸球菌の感受性が他のグラム陽性菌種に比べて小なることに着目し，腸球菌撰択培地えの応用について比較検討した結果，エチルバイオレットを最適なものとして採用し，結局 NaN_3 とエチルバイオレットとを併用した腸球菌検出用培地を発表した。彼らの方法では，0.02% の NaN_3 を含む推定試験培地に 37°C で 48 時間培養し，さらに 0.04% の NaN_3 と 0.000012% のエチルバイオレットを含有する確認試験培地に 37°C で 48 時間培養するものであるが，河川，下水等の検体について腸球菌の most probable number (MPN) 測定の比較試験を行つたところ，前記の PERRY 等の SF method および WINTER 等の方法よりも遥かに優れた結果を得たと述べている。一方，ALLEN 等 (1953)[15] は腸球菌の定量的検査法として寒天培地を用いた方法を，CHILDS 等[16] は MPN の測定法について研究しているが，CHILDS 等は 45°C の培養温度を重視しており，かつ NaN_3 含有培地で直接 45°C において培養した場合には，"resting cell" の状態にある腸球菌の一部もまた発育の阻害される点を考慮し，培地を 2 つの部分に分ち，まず NaN_3 を含まぬ培地に接種し，37°C に 2 時間保ち，"resuscitation" を行い，ついで NaN_3 を添加し，45°C で培養する方法を考按した。彼等はまた，直接 NaN_3 含有培地に接種し 37°C で培養し，酸を生成したものを全く同じ組成の新しい培地に移植し，45°C でさらに培養する方法を "subculture method" と称し，前述の "resuscitation method" と比較したが，"resuscitation method" の方がむしろやや大なる測定値を示し，かつ測定に要する時間が遥かに短縮されると述べている。なお彼らの使用した液体培地は制菌剤として 0.025% の NaN_3 のみを含有している。わが国においてこの方面の研究が始められたのは比較的最近のことであるが，1954 年那賀[17]は推定試験培地として B. T. B. azide dextrose broth を，確認試験培地として B.T.B. azide dextrose agar を用いる方法について研究しており，柳沢等[18,19]はエチルバイオレットの抗菌性について研究し，かつエチルバイオレットを使用した LITSKY 等の方法に関して検討を行つている。その後富林[20]は推定試験培地として lactose broth を使用し，確認試験培地に 0.03% NaN_3 および 0.00006% エチルバイオレットを加えた培地を使用することにより，従来の方法より優れた成績が得られ，かつ大腸菌群検査と同時に並行して行い得る点で有利であると述べている。なお柳沢[21]は腸球菌の定量的検査法に関する従来の業績を一括して紹介している。また一方，近年メンブランフィルターを使用した腸球菌の測定法が SLANET 等[22,23]，COLOBERT 等[24]によつて報告されている。

従来の腸球菌の定量的検査法の中，比較的初期に報告された PERRY 等の SF 培地による方法，WINTER 等の方法等はかなり高濃度の NaN_3 の使用，あるいは 45°C の培養温度の併用等の比較的強度の制菌条件

のため，腸球菌の発育も阻害される関係から，実際よりも MPN 値が小さく現われ，すでにその欠陥が指摘されている。一方これに対し，LITSKY 等の方法は NaN_3 の低濃度を用い，培養温度を 37°C とし，さらにエチルバイオレットの添加により撰択性を高める等の工夫がなされ，従来の方法を大いに改良したものといわれている。

LITSKY 等の方法は元来，水の腸球菌検査を対象として研究されたものであるが，著者は水，下水および食品等の検体について追試，検討したところ，本法の確認試験培地は腸球菌撰択の確実性を欠き，特に食品の場合にその欠陥が顕著に現われることを認めたので，水，下水等のみならず，食品の場合にも応用し得るより確実度の高い腸球菌検査法を考按する目的で研究を開始している。その基礎的研究としてすでに腸球菌の好適な発育培地[25]および腸球菌の撰択培養に有効な制菌剤[26,27]について検討を行つているが，その結果，ポリペプトンを使用し，クエン酸ソーダ，酵母エキス等を添加した CYD broth (2% ポリペプトン，1.5% ブドウ糖，1% Na-citrate·$2H_2O$，0.5% 酵母エキス，0.5% NaCl，0.3% K_2HPO_4，0.3% KH_2PO_4，pH 7.0) は腸球菌発育培地として好適であり，また培地に腸球菌撰択性を与える目的で，グラム陰性菌に対する制菌剤としては，従来知られているごとく，やはり NaN_3 をおいて他に見あたらず，腸球菌以外のグラム陽性菌に対する制菌剤としてはエチルバイオレットあるいはクリスタルバイオレット等が好適であり，また一方フラジオマイシン等の抗生物質も考慮の価値があることを認めている。以上の研究結果にもとづき，従来の方法を参考として，腸球菌の定量的検査法 (MPN 測定法) について種々検討改良した結果，一応本菌の撰択性において高い確実度を有し，水，下水等のみならず一般食品の検査にも応用できる方法を考按したのでここに報告する。

実 験 方 法

1. 試 薬 類

培地の材料として使用した試薬類は第 4 報[25] および第 6 報[27] に記載したものと同じであるが，その後 NaN_3 はメルク製を，エチルバイオレットは The Coleman and Bell Co. (dye content 94%) のものを入手したのでそれぞれ使用した。

2. 腸球菌の完全試験

確認試験培地で陽性の結果を示したものについて，yeast dextrose agar plate (1% ペプトン，0.3% 酵母エキス，1% ブドウ糖，0.5% NaCl，2% 寒天) に画線培養し，発生した集落を観察し，その中代表的なものを撰び yeast dextrose agar slant (1% ペプトン，0.3% 酵母エキス，0.5% ブドウ糖，0.5% NaCl，1.3% 寒天) に培養しグラム染色検査を行い，さらに dextrose broth に 24 時間培養したものについて，第 2 報[28]の記載に準じて 45°C における発育，6.5% NaCl を含む dextrose broth ならびに pH 9.6 dextrose broth における発育の有無を試験し腸球菌の確認をした。

実　　　験

1. LITSKY 等[14] の原法ならびにこれに準ずる一改変法についての検討

LITSKY 等[14]は推定試験培地ならびに確認試験培地として Table 1 に示す処方を使用している。

この処方において，NaN_3 およびエチルバイオレットを除いた組成の培地は腸球菌の発育に好適なものであるが，第 4 報に報告したごとく，その組成における tryptose の代りにポリペプトンを使用し，さらに酵母エキスおよびクエン酸ソーダを添加した CYD broth もまた tryptose 使用の培地にまさる優れた腸球菌の発育培地であることを認めている。第 4 報に示したごとく，クエン酸ソーダの添加によつて，24 時間培養における腸球菌の発育度の高められることは明らかであるが，また一方培養の初期における発育状態を観察すると，クエン酸ソーダの添加によつて発育の開始時期がやや遅延する傾向のあることを経験しているので検体が直接接種されまづ腸球菌の発育を促すことを第一に考えねばならぬ推定試験培地には CYD broth の組成よりも，むしろクエン酸ソーダを除いた yeast dextrose broth の方が適当であろうと考え，かつ制菌

剤の点では LITSKY 等の方法と同じ濃度を採用し，Table 2 に示すごとく，推定試験培地として azide yeast dextrose broth (AYD broth) および確認試験培地として ethyl violet azide citrate yeast dextrose

Table 1. Formula of presumptive and confirmatory medium for enterococcal test according to LITSKY, MALLMANN and FIFIELD.

Presumptive medium		Confirmatory medium	
Tryptose	2.0 %	Tryptose	2.0 %
Dextrose	1.5 〃	Dextrose	1.5 〃
NaCl	0.5 〃	NaCl	0.5 〃
K_2HPO_4	0.27 〃	K_2HPO_4	0.27 〃
KH_2PO_4	0.27 〃	KH_2PO_4	0.27 〃
NaN_3	0.02 〃	NaN_3	0.04 〃
		Ethyl violet	0.000012 〃

Table 2. A presumptive and confirmatory medium derived from the method according to LITSKY et al.

Presumptive medium		Confirmatory medium	
Polypepton	2.0 %	Polypepton	2.0 %
Dextrose	1.5 〃	Dextrose	1.5 〃
Yeast extract	0.5 〃	Yeast extract	0.5 〃
NaCl	0.5 〃	NaCl	0.5 〃
K_2HPO_4	0.3 〃	K_2HPO_4	0.3 〃
KH_2PO_4	0.3 〃	KH_2PO_4	0.3 〃
NaN_3	0.02 〃	Na-citrate·$2H_2O$	1.0 〃
		NaN_3	0.04 〃
		Ethyl violet	0.000012 〃

Reaction was ajusted to pH 7.0.

Table 3. Comparison of selectivity of the confirmatory medium between the two different methods for enterococcal test.

Sample No.	Sample	Method	ml. of inoculation and test tube No. 0.1					0.01					0.001					0.0001				
			1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	Ditch-wrter	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	⨹	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−	+	−	−	⨹	−	−	−
2	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⨹	⨹	−	−	−	+	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−
3	Slops of fish shop	A	+	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	−	⨹	⨹	−	−	−	−	−	⨹	−	−	−	−	−
		B	+	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	−	⨹	⨹	⨹	⨹	−	−	⨹	⨹	−	−	−	−	−
4	〃	A	⨹	⨹	⨹	⨹	+	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	−	⨹	⨹	−	−	−	−	−	−
		B	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	−	⨹	⨹	−
5	〃	A	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	−	⨹	⨹	−	⨹	−	−	−	−
		B	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	⨹	−	−	−	−
6	Sewage	A						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
		B						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	+
7	River water	A	+	+	+	+	+	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
8	Drainage of slaughter-house	A						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⨹	⨹	⨹	+	+
		B						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⨹	−	−	⨹

A: the method according to LITSKY et al.
B: a modified method derived from method A.
−: negative in presumptive or confirmatory test.
+: positive in confirmatory test and enterococci were detected by complete test.
⨹: positive in confirmatory test, but organisms other than enterococci were detected by complete test.

broth (EACYD broth) を用いる一改変法を考按した。この AYD-EACYD broth method と LITSKY 等の原法とによる腸球菌の MPN 測定試験における確認試験培地の撰択性の比較検討を行つた。試験用検体としては汚染度高く比較的腸球菌が優勢に存在すると考えられる溝水，下水，河水，屠場排水等の他に，反対に腸球菌が他種細菌に比べ遥かに少数しか存在しないと思われる鮮魚店における調理の際の洗い流しの内臓等を含む汚水 (slops) を用いた。MPN 測定の常法にしたがつて，検水の各稀釈段階を5本宛の推定試験培地に接種し，37°C で 48 時間培養後発育したものを確認試験培地に移植し，さらに 37°C で 48 時間培養し，発育を示したものを確認試験陽性とし，これら陽性管の総てについて前述の完全試験を行つた。実験の結果を Table 3 に示す。

Table 3 に於いて ＋ は確認試験陽性でかつ完全試験により腸球菌を検出し得たものを示し，⚠ は確認試験陽性であるが完全試験により腸球菌は検出されず，他菌種が見出されたものを示す。本実験における ⚠ の例ではほとんどの場合グラム陽性桿菌が検出された。溝水，下水，河水，屠場排水等のごとき汚染度の高い試料においては，MPN の測定値ならびに腸球菌撰択の確実性において，LITSKY 等の方法と AYD-EACYD broth method との間には，ほとんど優劣は認められず，両方法ともに接種量の極く小さい段階において確認試験培地に若干グラム陽性桿菌の発育が見られる程度であつたが，鮮魚の "slops" を試料とした場合には，両者の方法ともに腸球菌撰択の効果は認められず，確認試験陽性管についての完全試験の結果ではほとんどすべてグラム陽性桿菌のみを分離検出した。以上の結果から，これらの方法は下水その他一般の汚染された水試料の場合には，その確実度においていささか不満足とはいえ，一応相当の撰択力を有するようであるが，鮮魚の "slops" のごとく豊富な有機栄養物質とともに優勢な他菌種が存在するような場合にはまつたく応用できないことを知つた。すなわち飲食品等を対象とする腸球菌の定量的検査を行うためにはより優れた撰択性をもつ方法が要求される。かかる見地から上記 AYD-EACYD broth method の腸球菌撰択性を高める方法を追求する目的で以下の検討を進めた。

2. エチルバイオレットおよびクエン酸ソーダの濃度について

研究を進める方法として，EACYD broth に耐え発育し，"false positive" の原因となつたグラム陽性桿菌を分離し，まづこれらの菌株の発育を阻止し得る条件について検討した。第一に EACYD broth に使

Table 4. Comparison of growth of enterococci and EACYD broth-resistant bacilli in EACYD broth containing varying concentration of Na-citrate or ethyl violet.

Concentration of substance / Hrs. of incubation / Organism	Strain No.	Na-citrate·$2H_2O$ (%)										Ethyl violet (%×10000)									
		0		1		2		4		8		0		0.12		0.3		0.5		0.7	
		24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Enterococci	Y 137	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	+	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	卄	+	卄
	N 32	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	卄	+	卄
	S 1	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	卄	−	+	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	卄	+	卄
EACYD broth-resistant rod organisms	F 97	−	+	+	卄	+	卄	+	卄	−	卄	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+
	F 105	±	+	±	+	±	+	±	+	−	+	±	+	−	+	−	+	−	+	−	+
	F 184	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	+	±	+
	F 196	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄	+	卄
	F 199	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	F 119	卄	卄	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−
	F 252	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+	−	+	−	−	−	−

−; no growth. ±: slight growth. +, 卄; degree of growth.

用されている制菌剤の濃度が問題となるが，NaN_3 はすでに 0.04% 用いてあるので，これ以上濃度を高めることは腸球菌の発育に相当影響があるものと考えられるので一応保留した。クエン酸ソーダは元来腸球菌の発育度を高める目的で添加しているのであるが，著者の経験によるとグラム陽性菌に対し，クエン酸ソーダの添加が制菌効果を有することを認めているので，まづクエン酸ソーダとエチルバイオレットの濃度をより高めた場合に上記のグラム陽性菌の発育を阻止し得るや否やを検討した。すなわち，上記の EACYD broth に耐性を有する桿菌7株と腸球菌の3株の dextrose broth における 24 時間培養菌を用い，Table 4 に示すごとく種々の濃度における発育状態を比較観察した。

Table 4 に示すごとく，桿菌の中の2株はクエン酸ソーダまたはエチルバイオレットの濃度を高めることにより制菌されたが，残りの5株はクエン酸ソーダを 8% に，あるいはエチルバイオレットを 0.00007% に高めても制菌されなかつた。エチルバイオレットの濃度を 0.00007% 以上に高めることも一応考えられることで，LITSKY 等[29]もその後確認試験培地におけるエチルバイオレットの濃度を大巾に変更し，0.000083% として使用している。著者は多数の腸球菌保存菌株についてこの点を検討したが，0.000083% ethyl violet azide dextrose broth では相当数の菌株が発育を阻止される事を認めた。また一方 CYD broth に種々の濃度のエチルバイオレットを添加した場合の腸球菌の発育状態について観察したのでその結果を Table 5 に示しておく。

Table 5. Growth of some enterococcal organisms in CYD broth containing varying concentration of ethyl violet.

Concentration of ethyl violet (% ×10000) / Organisms \ Hrs. of incubation	0.1			0.3			0.4			0.5			0.6			0.7			0.8			0.9			1.0			Control		
	15	24	48	15	24	48	15	24	48	15	24	48	15	24	48	15	24	48	15	24	48	15	24	48	15	24	48	15	24	48
Str. faecalis 8043 ATCC	++	++	++	++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	±	+	++	−	±	++	−	−	+	−	−	−	++	++	++
Str. faecalis 10541 ATCC	++	++	++	++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	±	+	++	−	−	++	−	−	−	++	++	++
Str. liquefaciens 4532 ATCC	++	++	++	++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	−	+	++	−	−	−	++	++	++
Str. zymogenes 10100 ATCC	++	++	++	++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	−	+	++	−	±	+	−	±	+	−	−	−	++	++	++
Str. durans 9810 ATCC	++	++	++	+	++	++	+	+	+	+	+	+	−	±	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	++	++	++
Y 137 (type Ⅰ)	++	++	++	++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	−	+	++	−	±	++	−	−	++	−	−	−	++	++	++
Y 161 (type Ⅱ)	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	−	−	+	−	−	−	++	++	++
K 40 (type Ⅲ)	++	++	++	++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	±	+	++	−	+	++	−	−	−	++	++	++

Table 5 の結果からみても，エチルバイオレットの濃度が 0.00007% 以上となれば発育の遅延が見られるが，特に *Str. durans* は 0.00006% 以下ですら若干発育を阻害されている。なおこの実験では制菌剤としてエチルバイオレットが単独で CYD に添加された場合について観察しているのであるが，EACYD broth の場合にはさらに NaN_3 が同時に制菌的に作用し，一層腸球菌の発育に強く影響するであろうから，EACYD broth におけるエチルバイオレットのあまり高濃度の使用はできるだけ避けた方がよいであろう。以上の実験結果から，EACYD 耐性桿菌類を制菌する目的には，クエン酸ソーダあるいはエチルバイオレットの濃度を高める方法は無効であることを認めた。

なお AYD broth 或は EACYD broth の組成の中従来 K_2HPO_4，KH_2PO_4 は各 0.3% の濃度で使用していたが，K_2HPO_4 0.4%，KH_2PO_4 0.15% とした方が培地の pH の関係で好都合であるので，以後の実験ではすべてこのように変更した組成を用いた。この場合培地の pH はほぼ 6.9 となるので普通このまま使用することとした

3. NaCl の濃度について

腸球菌は一般に 6.5% NaCl を加えた dextrose broth 等において 24～48 時間でよく発育し得るものであるが，上記桿菌類は何れも 6.5% NaCl の培地に発育せぬ菌株であるので，EACYD broth の NaCl 濃度を高めた場合に，これら桿菌類を淘汰できるのではないかと考え，種々の濃度に NaCl を加えた EACYD broth における上記桿菌類と腸球菌との発育を比較しその結果を Table 6 に示した。

Table 6. Comparison of growth of some enterococcal organisms and EACYD broth-resistant bacilli in EACYD broth containing varying concentration of sodium chloride.

Organisms		Strain No. \ Concentration of NaCl (%) / Hrs. of incubation	1.5			2.5			3.5			4.5			5.5			6.5		
			24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96
Enterococci	type I	Y 61	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−	+	−	−	−
		Y 101	−	+	+	−	±	+	−	−	+	−	−	+	−	−	+	−	−	−
		K 13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	−	±	+	−	−	+
		S 42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	−	−	+	−	−	−
		W 26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	−	−	+	−	−	±
		H 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	−	+	+	−	−	+
		T 46	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	type II	Y 114	+	+	+	−	+	+	−	−	+	−	−	±	−	−	−	−	−	−
		N 124	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	−	−	±	−	−	−
		T 71	±	±	+	−	±	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		S 34	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	+	+	−	−	−	−	−	−
	tyye III	Y 34	−	+	+	−	+	+	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−
		T 2	−	+	+	−	±	+	−	−	+	−	−	+	−	−	+	−	−	−
		T 58	+	+	+	+	+	+	−	±	+	−	±	+	−	−	+	−	−	−
		S 1	±	+	+	−	+	+	−	+	+	−	±	+	−	−	+	−	−	+
		S 46	+	+	+	±	+	+	−	+	+	−	±	+	−	−	+	−	−	−
EACYD broth-resistant bacilli		F 97	+	+	+	±	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 106	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 184	+	+	+	+	+	+	±	±	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 119	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 199	+	+	+	+	+	+	±	±	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 205	−	+	+	−	+	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 212	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−	±	−	−	−	−	−	−
		F 100	−	+	+	−	+	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 210	−	±	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

基礎培地が dextrose broth の場合と異り，EACYD broth のごとく他の制菌剤を含有する培地では腸球菌の NaCl 抵抗性がかなり減弱されることを認めた。すなわち 6.5% NaCl の存在で 48 時間以内に発育した菌株は認められず，2.5% NaCl の濃度ですら若干の菌株は発育を阻害されている。一方，桿菌類の NaCl 抵抗性は一般に腸球菌より劣るようであるが，その差はさほど明瞭なものではないので EACYD broth に高濃度の NaCl を添加することによりこれら桿菌類を淘汰することは困難であると認めた。

4. 培養温度および NaN_3 濃度等について

以上の実験により EACYD broth の制菌剤の濃度を変えても培地の選択性を高める効果のないことを知

つたので，つぎに CHILDS 等[16]の "subculture method" の要素を取入れるべく検討をはじめた。CHILDS 等はペプトン 10g，yeastrel 3g，ブドウ糖 5g，NaCl 5g，K_2HPO_4 5g，KH_2PO_4 2g，NaN_3 0.25g，1.6% ブロムクレゾールパープル溶液 2 ml，蒸溜水 1000 ml の処方の培地を推定試験ならびに確認試験の両方に使用している。ただ推定試験では 37°C，確認試験の場合には 45°C の培養温度を採用している。彼等の培地の組成は著者が検討しつつある推定試験培地，AYD broth と本質的に極めて類似している。NaN_3 の濃度は 0.025% で LITSKY 等の確認試験培地に比べさらに小さい。しかもエチルバイオレット等のグラム陽性菌に対する制菌剤を使用していないのであるから，腸球菌撰択性については 45°C の培養条件がはなはだ重要視されているわけである。また彼等は pH 指示薬を添加し，腸球菌の発育による酸の生成を観察する方法をとつている。この点に関しては著者が別の実験によつて種々検討したが，その結果によると，ブロムク

Table 7. Growth of some enterococcal organisms and EACYD broth-resistant bacilli in some modified conditions of EACYD broth.

Basal medium			EACYD broth															CHILDS and ALLEN's medium		
Modification of medium			Not modified			Not modified			Na-citrate omitted			NaN_3: 0.025%			NaN_3: 0.025% Na-citrate omitted			B. C. P. omitted		
Incubation temperature			37°C			45°C			45°C			45°C			45°C			45°C		
Organisms / Hrs. of incubation			24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Enterococci	type I	Y 61	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		Y 101	−	+		−	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		K 13	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		S 42	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		W 26	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		H 6	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		T 46	−	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
	tppe II	Y 114	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		N 124	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		T 71	±	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		S 34	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
	type III	Y 34	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		T 2	−	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		T 58	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		S 1	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
		S 46	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
EACYD broth-resistant bacilli		F 97	+	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 106	−	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±	±	−	+	+
		F 184	+	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
		F 119	−	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	+
		F 199	+	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 205	+	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 212	+	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±
		F 100	−	+		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		F 210	±	±	±	−	−	−	−	−	±	−	−	−	−	−	±	−	±	±

レゾールパープル (B.C.P.) を明かに変色するだけの充分の酸が産生されていない場合といえども，腸球菌の発育しておる場合をしばしば経験しているので，指示薬の使用はそれほど有効なものとは考えられない。また CHILDS の培地はもちろんクエン酸ソーダを含有していない。そこで前記の AYD–EACYD broth method を CHILDS 等の方法の要素をとり入れ改変した場合の効果を検討する目的で，EACYD broth の培養温度を単に 45°C に変えた場合，さらに培養温度を 45°C とする他に，NaN_3 濃度を減小し 0.025% とした場合，クエン酸ソーダを除いた場合，NaN_3 を 0.025% とし，同時にクエン酸ソーダを除いた場合等の条件で腸球菌ならびに前記の EACYD broth 耐性桿菌の発育状態を比較観察した。なお比較のため CHILDS の培地（ただし B.C.P. を除いた）における発育状態も並行して観察した。実験の結果を Table 7 に示す。

Table 7 に示されるごとく，何れの培養条件においても，腸球菌は正常に発育したが，桿菌類は 45°C の条件では何れの培地でもほとんど発育を阻止された。すなわち 45°C の条件は確認試験培養に撰択性を与える上で極めて重要な効果を有することを認めた。さらに細かく比較すると CHILDS の培地が撰択力の点でやや劣り，48 時間で桿菌の 3 株が，72 時間で 4 株が発育しているが，これはエチルバイオレットならびにクエン酸ソーダを含有していないことに起因するものであろう。EACYD broth において NaN_3 を 0.025% に減小しても桿菌類の発育を完全に阻止したが，NaN_3 を 0.025% とし，さらにクエン酸ソーダを除いた培地では 48 時間後に桿菌の 1 株，72 時間後に 3 株が発育をみせており，クエン酸ソーダが培地の撰択性に若干効果的に作用していることを認めた。

5. 改良腸球菌検査法，AYD–EAC broth method の実際的検討

培地の撰択性が失われない限り，使用する制菌剤濃度はできるだけ低い方が好ましいであろうから，以上の実験結果に基ずいて，0.025% NaN_3, 0.000012% エチルバイオレット，1% Na–citrate・$2H_2O$ を含有する培地を用い，培養温度を 45°C とする方法が確認試験として適当であると考え，Table 8 に示すごとき推定試験培地，azide yeast dextrose broth (AYD broth) および確認試験培地，ethyl violet azide citrate broth (以下，EAC broth と略す) を用いる方法，すなわち，AYD broth に 37°C で 48 時間培養し，発育したものは EAC broth に移植し，45°C でさらに 48 時間培養する方法を AYD–EAC broth method と称することとする。

Table 8. Presumptive broth and confirmatory broth in an improved method for enterococcal test.

Presumptive broth			Confirmatory broth		
Polypepton	20	g.	Polypepton	20	g.
Dextrose	15	〃	Dextrose	15	〃
Yeast extract	5	〃	Yeast extract	5	〃
NaCl	5	〃	NaCl	5	〃
K_2HPO_4	4	〃	K_2HPO_4	4	〃
KH_2PO_4	1.5	〃	KH_2PO_4	1.5	〃
NaN_3	0.2	〃	Na–citrate・$2H_2O$	10	〃
Distilled water	1000	ml.	NaN_3	0.25	〃
			Ethyl violet	0.00012	〃
			Distilled water	1000	ml.

These media are sterilized at 121°C. for 15 miuntes.

この方法による腸球菌の定量的検査法，すなわち MPN 測定法の実用的価値を判断するため，実際の検体について MPN 測定試験を行い，確認試験の結果の示す腸球菌撰択の確実性について，LITSKY 等の方法ならびに CHILDS 等の方法と比較検討した。検体としては，前記 Table 3 に示した試験において，培地の撰択性が特に問題となつた鮮魚の "slops" と，これに類似の条件にある鮮魚の漬水を用いた他，汚染度の高い溝水，下水，海水，河水等についても行つた。実験の結果を Table 9 および 10 に示した。

なお本実験においては，確認試験陽性の管を ＋ で示したが，その中，比較的接種量の小さい段階から適当に数本宛抜きとり完全試験を行い，完全試験陽性を ⊕，陰性を ⊼ で示した。Table 9 および 10 に示した全部の試験を通じて，各方法ごとに完全試験を行つた管の本数（⊕ と ⊼ との合計），完全試験の結果腸球菌を分離確認し得たものの本数（⊕ の本数）ならびにその % を Table 11 にまとめ，3 種の方法による確認試験の正確度を比較した。

Table 9. Comparison of selectivity of confirmatory broth in three different methods for enterococcal test—I.

Sample No.	Sample	Method	*ml.* of inoculation and test tube No.																			
			10					1					0.1					0.01				
			1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	Saline water in which fishes were soaked	A	+	+	+	+	+	△	+	+	+	+	△	+	+	−	△	−	−	−	−	−
		B	⊕	−	⊕	+	⊕	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		C	−	⊕	+	+	+	−	⊕	⊕	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△	−	△	−	⊕	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	△	+	+	+	+	−	−	△	⊕	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	⊕	−	⊕	−	−	−	−	−	−	−
3	Slops of fish shop	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	△	+	⊕	+
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	⊕	−	−	−	⊕	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	+	⊕	−	⊕	−	−
4	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△	+	+	+	−	△	−	△	+
		B	+	+	+	+	⊕	−	−	⊕	+	△	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		C	−	+	+	+	⊕	+	⊕	+	+	⊕	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△	△	+	⊕	△	+
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	⊕	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	−	+	⊕	⊕	−	−	−
6	〃	A	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	⊕	+	+	△	−	−	−	⊕
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	⊕	⊕	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	⊕	⊕	⊕	−	−	−	−	−
7	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△	+	−	+	−	−	△
		B	+	+	+	+	+	⊕	⊕	+	+	+	−	⊕	−	−	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	−	⊕	−	−	−	−	−	−
8	Rive water	A	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	⊕	−	+	⊕	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	−	⊕	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	−	⊕	⊕	−	−	−	−	−	⊕

A: the method according to LITSKY, MALLMANN and FIFIELD. B: the method according to CHILDS and ALLEN. C: AYD-EAC broth method.
−: negative in presumptive or confirmatory test. +: positive in confirmatory test.
⊕: positive in complete test. △: negative in complete test.

Table 9~11 に示されるごとく，LITSKY 等の方法では，確認試験陽性の管の中，完全試験の結果陰性と認められた場合，すなわち “false positive” がはなはだ多く，全体を通じて 50% にも達し，Table 1 の場合と同様，特に鮮魚の “slops”，漬水等の検体の場合に著しい。これに比べ，CHILDS 等の方法はその点かなり良好の選択力を示し，全体を通じ確認試験陽性管についての腸球菌検出率は 84.9% であつた。この方法においても散発的ではあるが “false positive” がみられるので， MPN 値を算出するには一応完全試験の必要が認められる。AYD EAC broth method では全検体を通じ “false positive” は 1 本のみで，腸球菌検出率 98.2% を示し，この点 CHILDS 等の方法よりも一層優れており，本法においては確認試験培地すなわち EAC broth 陽性の管数によつて直ちに MPN 値を算定する事も可能と考えられる。上述のごと

Table 10. Comparison of selectivity of confirmatory broth in three different methods for enterococcal test—II.

Sample No.	Sample	Method	ml. of inoculation and test tube No. 0.1					0.01					0.001					0.0001				
			1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
9	Ditch-water	A	+	+	+	+	+	+	+	+	⨹	+	−	⨹	−	−	⨹	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	+	−	⊕	−	−	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	⊕	−	⊕	−	−	−	−	⊕	−	−	−	−	−	−
10	〃	A	+	+	+	+	+	⊕	−	+	−	+	−	−	−	⨹	⨹	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	−	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	−	−	−	⊕	−	−	−	−	−	−
11	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	−	−	−	⊕	−	−	−	−	−	⨹
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	+	−	−	−	−	−
12	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	−	+	⊕	+	−	⊕	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	−	−	⨹	−	⊕
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	−	−	+	⊕	⊕
13	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⨹	⊕	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	⊕	⊕	⊕
14	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	−	−	−	−	⊕
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	−	⊕	−	⨹	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	−	−	−	−	−
15	〃	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	⨹	−	−	−	−	−	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	−	−	−	⊕	⊕	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	⊕	+	+	+	+	⊕	−	−	−	⊕	−	−	−	−	−
16	〃	A	+	+	+	+	+	+	⨹	−	⨹	+	−	⨹	−	−	+	−	−	−	−	−
		B	⊕	+	+	⊕	+	−	−	⊕	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		C	+	+	+	+	+	−	−	⨹	⊕	⊕	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
17	Sewage	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	−	⊕	+
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	⨹	⊕	⊕
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	−	−
18	Sea-water contaminated with ditch-water	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	⊕	+	−	⊕	−	−	−
		B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	⨹	−	−	−	⊕	−	−
		C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	⊕	+	⊕	−	−	−	−	−

See marginal note in table 9.

く前2者の方法の場合には相当の “false positive” が存在するので，この実験では3方法による MPN 値を明瞭に比較することはできないが，比較的 “false positive” の現われなかつた検体について，およその比較をすると3者の間には MPN 値の差異はほとんどないものと見られる。

以上のごとく，AYD–EAC broth method が優れた腸球菌撰択性を有することを知つたが，さらに広汎

Table 11. Result of complete test of confirmatory test-positive tubes obtained by three different methods.

		LITSKY, MALLMANN and FIFIELD's method	CHILDS and ALLEN's method	AYD–EAC broth method
No. of confirmatory test-positive tubes employed in complete test		50	53	56
Complete test-positive tube	Number	25	45	55
	%	50.0	84.9	98.2

の種類の検体，特に種々の食品類等の腸球菌の定量的検査に応用を試みた処，何れの場合にも確実度の高い満足すべき結果の得られることを確認した。

6. 推定試験培地として lactose broth を使用する方法について

宮林[20] は NaN_3 に特に感受性の強い腸球菌々株の存在する場合に azide dextrose broth のごとき推定試験培地において，発育の阻害される可能性を考慮し，むしろ全く制菌剤を含まぬ推定試験培地によつて，腸球菌の発育を促した方が優れた結果が得られるのではないかと考え，lactose broth を腸球菌の推定試験培地として利用することについて検討した結果，推定試験培地として lactose broth を用い，確認試験培地として宮林の考按した 0.03% NaN_3, 0.00006% エチルバイオレットを含有した B.E.A.D. broth を使用することにより，既知の方法より優れた成績が得られたと報告している。なお同氏は，確認試験においても 37°C の培養温度を採用している。著者はこの方法の腸球菌撰択性について検討したが，前述の鮮魚の "slops" の如き検体の場合には満足すべき撰択性が認められなかつた。また一方 AYD–EAC broth と，その推定試験培地 AYD broth の代りに lactose broth を使用した lactose broth–EAC broth method とについて比較検討した。すなわち検体 10 例において，この 2 種の方法で測定した MPN 値を比較した。この場合完全試験を行つたが，両方法ともに，確認試験における "false positive" はきわめて少数で，lactose broth の使用のため EAC broth の撰択性に影響を与えるようなことは認められなかつた。

Table 12. Comparison of MPN values* determined by two different enterococcal test methods using AYD–EAC brotth or lactose broth-EAC broth.

Sample \ Method	AYD–EAC broth	Lactose broth-EAC broth
1. Sewage	2,200,000	5,400,000
2. Ditch-water	79,000	64,000
3. Drainage of slaughter house	790,000	1,700,000
4. Ditch-water	110,000	700,000
5. Slops of fish shop	49,000	130,000
6. Ditch-water	200	780
7. 〃	7,900	7,900
8. 〃	4,900	680
9. Slops of fish shop	4,300	3,500
10. 〃	1,100	490
Log. average	4.3433	4.4585

* Figures represent MPN values per 100 ml.

実験の結果は Table 12 に示すごとくで，両者の間の MPN 値の差はほとんどないが，lactose broth 使用の場合の数値がわずかに優つていた。以上の結果から，lactose broth–EAC broth method もまた優れた腸球菌検査法であることを認めた。

考　　察

飲食品，水等の糞便汚染指標として，実際的に腸球菌の定量的検査を行うためには，正確度において信頼性があり，かつ検査手技の簡単な方法が確立されねばならない。しかるに従来既知の検査法についてみるに

ある方法ではその撰択培養の制菌条件が強きに失して腸球菌の発育をも阻害し測定値が実際より小さく現われ，また一方 LITSKY 等の方法におけるごとく，制菌条件を緩和し，比較的高い MPN 値を得られるよう改良された方法では腸球菌撰択の確実度が低下し，水，下水第の検査の場合においてすら MPN 値を算出するために完全試験を必要とする。さらにまた飲食品等のごとく，圧倒的多数の他種細菌の中に，少数の腸球菌が附着している状態の検体を対象とする場合には LITSKY 等の術式をそのまま適用すると確認試験における "false positive" が全面的に出現し，水の検査の場合の如く，確認試験における撰択性の不完全を完全試験によつて補うがごとき術式も実際的には不可能であろう。したがつて種々の飲食品の検査にも適用し得るがごとき高度の撰択性を有する確認試験の方法がぜひとも要求されるわけであり，これはまた結局使用する制菌剤の種類とその濃度および培養温度の問題に帰する。本研究ではこの点について検討した結果，制菌剤の濃度を高めることによる撰択性の向上はある程度以上困難であり，むしろ培養温度を 45°C とすることにより著明に撰択性を高め得ることを認めた。このように培養温度を 45°C とした場合には確認培地に 0.025% NaN_3，0.000012% エチルバイオレット，1% Na-citrate·$2H_2O$ の使用により満足すべき撰択性が得られた。このエチルバイオレットの濃度は LITSKY 等の原法をそのまま採用したものであるが，その後の報告では LITSKY 等は 0.000083%，宮林は 0.00006% のごとき高濃度の使用を報告している。しかし著者はエチルバイオレットの制菌効果に多くを期待すべきではないとの見解をとつている。すなわち CHILDS 等は全く本色素を含まぬ培地を使用しているが培養温度を 45°C としている関係から，彼等の確認試験は充分実用し得る程度の撰択力を有する。一方著者はエチルバイオレットの濃度が高くなるにつれ腸球菌の発育に阻害が見られ，かつまた，そのような高濃度にも耐性を有する桿菌類が実際には相当存在することを経験している。したがつてエチルバイオレットの使用濃度は必要の最小限にとどめた方が無難であり，0.000012% の濃度を特に変更すべき理由が未だ見出されぬのでそのまま使用しておくこととした。クエン酸ソーダの添加により培地の撰択性を高めることが本研究により見出され，EAC broth が CHILDS 等の培地よりも撰択力の高い原因は主としてクエン酸ソーダとエチルバイオレットの添加によるものと考えられる。推定試験培地として LITSKY 等の方法に準じて考按した 0.02% の NaN_3 を使用した AYD broth は好適なものと考える。一方宮林の提唱したごとく，AYD broth の代りに lactose broth を使用する方法は，検体によつては大腸菌群検査と並行して行い得る点からもはなはだ有利な方法である。しかしまた鮮魚の "slops" で経験したごとく，他種細菌が非常に多数を占め，腸球菌が存在しないか，あるいはごく少数附着するごとき検体において lactose broth を使用した場合には，接種量の小さい方の段階の lactose broth における発育はほとんどすべて他種細菌によるものであるが，これらのすべてを確認試験培地に移植することになるので AYD broth 使用の場合に比べて，はなはだしく多数の確認試験培地と余分の手数を要することとなる。したがつて水，下水のごとき検体の場合には腸球菌検査の推定試験培地としても lactose broth の使用が適当であり，一般食品のごとく成分中に細菌の発育栄養素を含む検体の場合には，AYD broth を使用した方が手数を省ける点有利であろう。

腸球菌の実際の定量的検査において確認試験陽性の管について，さらに完全試験を行うことははなはだ繁雑であるが，著者の考按した AYD-EAC broth method あるいは lactose broth-EAC broth method によれば，水，下水等の検体はもちろん，飲食品の検査においても，特に正確な数値を要求する場合でない限り，完全試験を略し，確認試験陽性の管数によつて直ちに MPN 値を算出することが可能である。また特に完全試験を行う場合には，前述のごとき方法で行い，グラム陽性の双球菌(稀に連鎖を示す)で，6.5% NaCl, 45°C, pH 9.6 の条件で発育を示すものを一応腸球菌と断定してよいであろう。第 2 報[28]の研究結果に鑑みこの場合 60°C, 30 分の耐熱試験，0.1% チレンブルー牛乳発育試験等は省略すべきであろうと考える。

摘　　要

水，飲食品等の腸球菌の定量的検査方法について，従来種々の報告があるが，何れも腸球菌撰択の確実性の点で不満足であり，実用上信頼し得る優れた方法は確立されていない。本研究では腸球菌検査法の改良に

ついて種々検討した結果，確認試験における培養温度を 45°C とすることが腸球菌選択性の点で特に重要な条件であることを見出し，結局推定試験培地として azide yeast dextrose broth (0.02% NaN_3 含有）を用い，37°C で 48 時間培養し，さらに確認試験培地として ethyl violet azide citrate broth (0.000012% エチルバイオレット，0.025% NaN_3, 1% Na-citrate·$2H_2O$ 含有）を用い，45°C で 48 時間培養した後，発育したものを確認試験陽性とする方法は，腸球菌選択の確実度においてきわめて優れているので，特に厳密を要する場合の他完全試験を省略し，確認試験の結果から直ちに MPN 値を算出し得ることを認めた。また推定試験培地として azide yeast dextrose broth の代りに lactose broth を使用する方法もまた優れた方法であることを認めたが，特に同一培地で大腸菌群の推定試験をも同時に行える点有利であると考えられる。

終りに臨み，校閲を賜わつた東京水産大学関根隆教授に，謹んで感謝の意を表する。また本研究の遂行に協力された松元茂夫，野原照子の両氏に深く感謝する。

文　　献

1) BAGGER, S. V.: *J. Path. Bact.*, **29**, 225 (1926).
2) FLEMING, A.: *J. Path. Bact.*, **35**, 831 (1932).
3) MALLMANN, W. L.: *Sew. Works J.*, **12**, 875 (1940).
4) SNYDER, M. L. and LICHSTEIN, H. C.: *J. Inf. Dis.*, **67**, 113 (1940).
5) MALLMANN, W. L., BOTWRIGHT, W. E., and CHURCHILL, E. S.: *J. Inf. Dis.*, **69**, 215 (1941).
6) LICHSTEIN, H. C. and SOULE, M. H.: *J. Bact.*, **47**, 221 (1944).
7) PACKER, R. A.: *J. Bact.*, **46**, 343 (1943).
8) HAJNA, A. A. and PERRY, C. A.: *Am. J. Pub. Health*, **33**, 550 (1943).
9) Difco manual of dehydrated culture media and reagents, 9 th ed., p. 50, (1953).
10) CHAPMAN, G. H.: *J. Bact.*, **48**, 113 (1944).
11) MALLMANN, W. L. and SELIGMANN, E. B.: *Am. J. Pub. Health*, **40**, 286 (1950).
12) 斎藤長門: 日本医大誌，**19**, 498 (1952).
13) LITSKY, W., MALLMANN, W. L., and FIFIELD, C. W.: *Stain Technol.*, **27**, 229 (1952).
14) LITSKY, W., MALLMANN, W. L., and FIFIELD, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **43**, 873 (1953).
15) ALLEN, L. A., PIERCE, M. A. F., and SMITH, H. M.: *J. Hyg.*, **51**, 458 (1953).
16) CHILDS, E. and ALLEN, L. A.: *J. Hyg.*, **51**, 468 (1953).
17) 那須昭夫: 日本衛生学雑誌，**8**, 173 (1954).
18) 柳沢文徳　他: 医学と生物学，**33**, 225 (1954).
19) 柳沢文徳　他: 腐敗研究所報告，**7**, 59 (1954).
20) 宮林　晃: 千葉医学会雑誌，**33**, 107 (1957).
21) 柳沢文徳: 腐敗研究所報告，**9**, 26 (1956).
22) SLANETZ, L. W., BENT, D. F., and BARTLEY, C. H.: *Pub. Health, Rep.*, **70**, 67 (1955).
23) S ANETZ, L. W. and BARTLEY, C. H.: *J. Bact.*, **74**, 591 (1957).
24) COLOBERT, L. and MORÉLIS, P.: *Ann. Inst. Pasteur*, **94**, 120 (1958).
25) 堀江　進: 本誌，**26**, 39 (1959).
26) 堀江　進・関根　隆: 本誌，**26**, 149 (1960).
27) 堀江　進・関根　隆: 本誌，**26**, 161 (1960).
28) 堀江　進: 本誌，**25**, 488 (1959).
29) LITSKY, W., MA LMANN, W. L., and FIFIELD, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **45**, 1049 (1955).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—VIII.
人の糞便，食品，水における腸球菌の菌数ならびに菌型について

堀 江 進

(1959 年 11 月 26 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—VIII.
NUMBERS AND TYPES OF ENTEROCOCCI IN HUMAN FECES, FOODS AND WATERS

Susumu HORIE*

Comparative studies have been made between numbers of coliform bacteria and enterococci in human feces, raw fishes and shellfishes, frozen foods, ice-creams, well waters, coastal bathing waters and other waters. From the experimental results, no relationship between numbers of coliforms and enterococci was observed, particularly in sliced tuna, some frozen foods and ice-creams. Three hundred and four strains of enterococcus group isolated from almost all of the samples tested were classified according to the author's method[27]. Among these organisms, 283 strains (93.2%) were found to be classified into the following 3 groups; 161 strains (53%) belonged to type I, 44 strains (14.5%) to type II, 78 strains (25.7%) to type III. In general, type I organisms were found to be the most predominant ones; however, it was noted that the population of type III organisms were the greatest in the case of sliced tuna samples. In the present study, AYD–EAC broth method reported in preceeding paper[26] was used for the determination of enterococci. Experimental results revealed that the most probable number of enterococci can be determined by AYD–EAC broth procedure irrespective of kinds of sample without laborious complete test. Therefore, the newly developed method for the examination of enterococci is simpler and requires less time than the method for coliform bacteria.

緒 言

糞便，食品，種々の水等における腸球菌の分布状態に関してはすでに多くの報告がある。OSTROLENK 等[1]，SLANETZ 等[2] および著者[3] は人あるいは動物の糞便における腸球菌々数を大腸菌あるいは大腸菌群菌数と比較しており，種々の水，下水等の腸球菌々数については LATTANZI 等[4]，LEININGER 等[5]，LITSKY 等[6,7]，MORRIS 等[8]，RITTER 等[9] の報告がある。また RITTER 等[10]，FRANCE 等[11] はプールの水における連鎖球菌について研究している。食品類における腸球菌に関しては，かに肉について Mc CLESKEY 等[12]，かきについて WILSON 等[13,14]，かに肉その他の食品について OSTROLENK 等[15]，乾燥卵について SOLOWEY 等[16]，冷凍した濃縮オレンジジュースについて KAPLAN 等[17]，FERRARO 等[18]，冷凍した果実，野菜，水産食品等については LARKIN 等[19,20] の報告がある。わが国においても，いか，たこ，について那須[21]，生菓子について村磯[22]，納豆について松本[23]，種々の日常食品について宮林[24,25]の報告がある。しかしながら最近に至るまで腸球菌の定量的検査法として，特に信頼し得る方法は見出だされていないので，従来の多数の報告における腸球菌々数の測定値についてはかなりの疑問がある。前報[26]で著者は腸球菌撰択力の高い優れた定量

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

的検査法を報告したが，本研究では，この方法を用いて，人の糞便，食品類，井戸水，海水等の検体の腸球菌々数を測定し，大腸菌群菌数との比較を行い，さらに各種検体より両菌群菌株を分離し，腸球菌は著者の分類法[27]にしたがつて3種の菌型に分類し，大腸菌群は IMVIC system により分類し，これ等の検体における各菌型の検出状態を比較観察した。その結果上記の腸球菌検査法が食品，水等の検査の場合にも信頼し得る方法として応用できること，ならびにこれ等の検体からの分離菌株のほとんどすべてが前記3種の菌型に分類し得ることを認め，さらにまた種々の検体に存在する腸球菌と大腸菌群との菌数ならびに菌型の関係について若干の知見を得たのでこれ等について報告する。

実験材料および方法

1. 検 査 材 料

糞便の試料は東京寄生虫予防協会から提供された。鮮魚介類および冷凍食品は 1958 年 5～6 月に主として百貨店あるいは小売店等で購入したものであるが，冷凍あさりおよびかきは日本輸出冷凍水産物検査協会から与えられた。アイスクリーム類は 1958 年 6～7 月に，何れも小売店で購入したものであるが，その中の大部分 (No. 1～15) はそれぞれの店で材料を配合調製したものであり，一部 (No. 16～19) は一流会社で製造包装されたものである。井戸水の試料は 1958 年7月東京都内およびその近郊から蒐集した。海水試料は 1958 年7月下旬神奈川県の逗子，鎌倉，江の島，馬堀，金沢八景の各海水浴場および東京都の平和島海水浴場等から採集した。鎌倉，江の島，逗子における水浴者数はこれ等海水浴場におけるほぼ最高程度であつた。馬堀，金沢八景の水浴者数は前3者に比べて遙かに少く，また平和島ではさらにごく少数であつた。その他の水，下水等の試料は都内西南部で採集したものである。以上の中，海水の場合には現地に培地その他を持参し，採水後直ちに接種を行つた。その他の試料は何れも実験室に持参して接種したが，試料採取後1時間半以内に接種を完了した。

2. 大腸菌群の測定および菌型分類

糞使試料: 試料の中心部分より 1～2g を秤取し，10 倍量の滅菌生理食塩水に混釈振盪したものを原液とし，以下第1報[3]に記載した方法に準じて，大腸菌群陽性の最高稀釈段階すなわち試料の最小検出量を求めた。

鮮魚介類，冷凍食品: 試料 40g をホモジナイザーのカップに秤取し，滅菌生理食塩水 360ml と混じ，ホモジナイザーにかけ均質乳状化したものを原液とし，常法によつて段階稀釈液をつくり，原液の 10ml および 1ml 宛，各稀釈液の 1ml 宛をそれぞれ3本の BGLB 培地に接種し，以下食品衛生検査指針[28]の方法に準じて完全試験まで行い，MPN 値を求めた。

アイスクリーム類: 室温で融解させたものを原液とし，以下鮮魚介類の場合に準じて行つた。

井戸水，海水，その他の水，下水: 飲料水検査指針[29]に記載された方法に準じたが全試料とも完全試験まで行つた後 MPN 値を求めた。

以上の各試料ごとに完全試験で大腸菌群に属すると認めた菌株の中の数株をえらび，IMVIC system による菌型分類を行つた。ただし糞便試料のみについては，この菌型分類を略した。

3. 腸球菌の測定および菌型分類

何れの試料においても大腸菌群の測定と同時に同じ原液および稀釈液を用い，著者の考按した AYD-EAC broth method[26]によつて行い，EAC broth 陽性の管数を以て MPN 値を算出した。なおすべての EAC broth 陽性の管より yeast dextrose agar に画線培養し，集落を観察し，各試料ごとに数株を分離し，前報[26]に述べたごとき完全試験を行い，腸球菌と確認した後，糖類分解能試験により菌型を分類した。

実 験 結 果

1. 人の糞便についての観察

人の糞便の 40 試料について大腸菌群と腸球菌との菌数を比較し，かつ腸球菌分離菌株の菌型分類を行つた。両菌群菌数の比較を行うに当り，これ等の菌種が検出された最小検出量を F(g) とし，$\log\frac{1}{F}$ を以つ

て示した。実験の結果は Table 1 に示すごとくである。

$\log \frac{1}{F}$ の平均値は大腸菌群 7.00, 腸球菌 5.68 で，前者が 1.32 の差で大であつた。 40 検体の中腸球菌が大腸菌群より大きな数値を示したもの 8 検体，両菌種が等しかつたもの 3 検体，他の29検体では大腸菌群の方が大であつた。以上の結果から人の糞便における腸球菌々数は一般に大腸菌群菌数の 1/10 以下の場合が多いと考えられる。なおこれ等の各試料から腸球菌々株を 2〜3 株宛分離し，その合計 92 株について菌型を分類した結果，69 株 (75%) はⅠ型，10 株 (10.9%) はⅡ型，9 株 (9.8%) はⅢ型に分類され，4 株 (4.3%) は以上 3 種の菌型の典型的糖類分解能を示さなかつた。

Table 1. Presence of coliform organisms and enterococci in human feces.

Sample No.	$\log \frac{1}{F}$ Coliforms	$\log \frac{1}{F}$ Enterococci	Sample No.	$\log \frac{1}{F}$ Coliforms	$\log \frac{1}{F}$ Enterococci
1	8	7	22	5	4
2	9	8	23	4	5
3	6	5	24	8	6
4	7	7	25	7	8
5	7	6	26	8	7
6	7	8	27	8	4
7	7	8	28	4	4
8	7	6	29	6	4
9	10	6	30	6	3
10	9	8	31	8	6
11	7	4	32	5	4
12	9	6	33	7	4
13	8	4	34	7	6
14	6	7	35	4	3
15	9	8	36	9	4
16	9	10	37	3	4
17	7	8	38	7	7
18	9	7	39	6	2
19	8	7	40	7	5
20	6	3			
21	6	4	Average	7.00	5.68

Table 2. Numbers and types of coliforms and enterococci in raw fishes and shellfishes.

Sample No.	Sample	MPN per 100g.		Coliforms*						Enterococci*		
		Coliforms	Enterococci	Esch. I	Esch. II	Int. I	Int. II	Aerob. I	Aerob. II	I	II	III
1	Squid	0	91							1		1
2	Round clam**	21,000	7,500			4				2		2
3	〃	21,000	15,000	1	1	1	1			1	1	
4	〃	>240,000	>240,000	1	1	4	1			1		2
5	Oyster**	430	46,000		2						2	
6	〃	24,000	240,000	3		1				2		1
7	〃	95,000	240,000	1	1	2				1	1	1
8	Short-necked clam**	>240,000	>240,000	3		2				2		2
9	Clam**	1,600	9,300		2	1						3
10	Sardine	4,300	36		1	1		3			1	
11	Fillet of yellow-tail	>240,000	0									
12	Sliced tuna	>240,000	150			3					1	1
13	〃	24,000	430				1		3			2
14	〃	110,000	230			4						2
15	〃	29,000	930		1	2				2	2	
16	〃	43,000	15,000	1		1		1		1		2
17	〃	21,000	4,300	2			1			1	1	2
18	〃	1,500	750	1				2		2	1	1
19	〃	43,000	430				1	1				2
20	〃	110,000	4,300			2				1		2
21	〃	93,000	36		1	1			1			1
22	〃	>240,000	24,000			3						3
23	〃	93,000	30			2						1
24	〃	240,000	150									2
25	〃	110,000	430			2		1		1		2
	Total			13	10	36	5	8	4	18	10	35

* Figure represents the number of strains. ** Shucked shellfish.

2. 鮮魚介類についての観察

鮮魚介類の若干の試料について，大腸菌群と腸球菌とのMPNを比較し，また両菌群の分離菌株の菌型分類を行つた。実験の結果を Table 2 に示した。

介類では両菌群ともに菌数は大であるが，どちらかといえば腸球菌々数の方が大腸菌群菌数をやや凌駕する数値を示した。一方まぐろの刺身その他の鮮魚の試料では，大腸菌群 MPN 値が介類の場合と同様高い数値を示したのに対し，腸球菌 MPN 値は一般に遥かに低く，両者の差は大部分の試料で顕著であつた。分離菌株についてみると，大腸球群では中間I型が最も多く，Escherichia I 型がこれについでおり，腸球菌ではIII型が最多数を占めI型がこれについでいる。一般に Escherichia I 型菌が検出された検体では，すべて腸球菌のI型菌が検出されており，両菌型の分布について関連性が認められた。

3. 冷凍食品についての観察

冷凍した介類その他の食品について同様の観察を行い，その結果を Table 3 に示した。

Table 3. Numbers and types of coliforms and enterococci in frozen foods.

Sample No.	Sample	MPN per 100g.		Coliforms*						Enterococci*		
		Coliforms	Enterococci	Esch. I	Esch. II	Int. I	Int. II	Aerob. I	Aerob. II	I	II	III
1	Short-necked clam	430	4,300	1		1				2	1	
2	〃	4,300	1,500	4						1		1
3	〃	230	2,400	2						2		1
4	〃	91	430	1			1			2	1	
5	〃	230	9,300	2				1		1	1	1
6	〃	3,500	4,300							2	1	1
7	〃	92	91							1	1	
8	〃	91	4,300	2						1	1	1
9	〃	230	0	1								
10	〃	110	91	1		1					1	
11	〃	280	430	2				2		3		
12	Oyster	4,300	46,000	1		1		1		1	1	1
13	〃	1,500	15,000	1		2				1	1	1
14	〃	2,100	24,000	1				2		1		1
15	〃	530	150,000	1		1	1			1		1
16	Oyster breaded	0	>240,000							3		
17	〃	390	930,000					3		3		
18	Tuna sticks	0	46,000							2		2
19	〃	>240,000	>2,400,000	2								2
20	Horse-mackerel breaded	430	430			3				1	1	1
21	Thick custardy soup	0	>240,000							3		2
22	〃	430	120,000	2				1		2		1
	Tatal			24	0	9	2	10	0	33	10	17

* Figure represents the number of strains.

一般に腸球菌は大腸菌群よりも高いMPN値を示した。その中冷凍あさり，かきの場合には，わづかの例外を除いて両者の差はそれ程大きくはないが，かきブレッデッド，その他の製品の場合には，その差がきわめて顕著で，大腸菌群 MPN 値が0であつた3検体において，腸球菌ははなはだ高い菌数を示した。分離菌株の菌型の点では鮮魚介類の場合と趣きを異にし，大腸菌群ではEscherichia I 型，腸球菌ではI型が最も多く検出された。

3. アイスクリーム類についての観察

アイスクリーム類について同様の観察を行い，その結果を Table 4 に示した。

No. 4 および 13 の試料では両菌群ともに大きなMPN値を示し，No. 7, 9, 10, 12, 17, 18, 19 の7試料では両者の菌数ともに比較的小であつたが，その他の6試料では腸球菌の方が大腸菌群に比べ著しく高い

Table 4. Numbers and types of coliforms and enterococci in ice-creams.

Sample No.	MPN per 100 ml.		Coliforms*						Enterococci*		
	Coliforms	Enterococci	Esch.		Int.		Aerob.				
			I	II	I	II	I	II	I	II	III
1	7.3	7,500	1		1					2	2
2	7.3	24,000					1		2		
3	9.1	9,300					1				2
4	160,000	>2,400,000					2		3		
5	0	2,400							3		1
6	0	11,000							3		1
7	62	75					2		2		
8	11	15,000			2	1			1		
9	7.3	290				1	1		1		1
10	0	9.1									
11	>240,000	3.6					3				1
12	9.1	240					1		2		
13	>240,000	>240,000					4		2		
14	>240,000	0			1	1	1				
15	>240,000	390	3		1		2		1	2	2
16	7,500	15					3		2		
17	9.1	0					2				
18	0	0									
19	0	0									
Total			4	0	5	3	23	0	22	4	10

* Figure represents the number of strains.

Table 5. Numbers and types of coliforms and enterococci in well waters.

Sample No.	MPN per 100 ml.		Coliforms*						Enterococci*		
	Coliforms	Enterococci	Esch.		Int.		Aerob.				
			I	II	I	II	I	II	I	II	III
1	240	0			2	1					
2	0	0									
3	460	75			1	1		1	1	1	1
4	240	0				2		1			
5	290	3.6			3						1
6	460	3.6			1		1				1
7	1,100	0					3				
8	93	0						1			
9	150	0			3						
10	460	0			1		1				
11	93	3.6			1	1	2		1		
12	93	0			1			1			
13	> 2,400	0					2	1			
14	460	7.3					1	1	1	1	
15	3	0				1					
16	150	0			1		1	1			
17	0	0									
18	23	0			2						
19	43	0			2		1				
20	9.1	0			1	1					
21	> 2,400	150	2				3		3	1	1
22	23	0					2				
Total			2	0	19	7	17	7	6	3	4

* Figure represents the number of strains.

MPN 値を示し，さらに残りの 4 試料では全く逆の関係がみられた。本観察によつてアイスクリーム類の場合には両菌群の菌数の間の関連性は稀薄であることが示された。また分離菌株についてみると，大腸菌群では Aerobacter I 型が大部分を占め，Escherichia I 型は 2 試料で検出されたに過ぎなかつた。これに対し腸球菌では I 型が最も多数であつた。

4. 井戸水についての観察

井戸水の 22 試料について同様の観察を行い，その結果を Table 5 に示した。

全試料を通じて大腸菌群は大部分の試料において，相当の菌数が見出だされ，本菌群が検出されなかつたのは 2 試料に過ぎなかつた。これに対し腸球菌は大部分の場合，すなわち 16 試料では検出されず，また検出された 6 試料においりも MPN 値は比較的低くかつた。大腸菌群の分離菌株の菌型についてみると，中間 I 型と Aerobacter I 型とが大部分を占め，Escherichia I 型は腸球菌 MPN 値の最も高かつた No. 21 の試料で検出されたに過ぎなかつた。

5. 海水浴場の海水，その他の水についての観察

海水浴場の海水の 12 試料，プールの水の 4 試料，河水，下水等の 6 試料について同様の観察を行い，その結果を Table 6 に示した。

Table 6. Numbers and types of coliforms and enterococci in coastal bathing waters and other waters.

Sample No.	Sample	MPN per 100 ml. Coliforms	MPN per 100 ml. Enterococci	Coliforms* Esch. I	Esch. II	Int. I	Int. II	Aerob. I	Aerob. II	Enterococci* I	II	III
1	Sea-water (Kanazawa-hakkei)	24,000	0	1		1		1				
2	〃 (〃)	43,000	0	1		1		1				
3	〃 (Mabori)	43	0	2				1				
4	〃 (〃)	23	0	1		1						
5	〃 (Heiwa-jima)	9,300	93	3				1		1	1	
6	〃 (〃)	4,300	15	3						1	1	1
7	〃 (Zushi)	930	9.1	1				1	1	1		1
8	〃 (〃)	150	3	1				2		1		
9	〃 (Kamakura)	150	7.2	3				1		1	1	
10	〃 (〃)	240	0	3								
11	〃 (Enoshima)	120	15	3						1		
12	〃 (〃)	2,400	11	3				1		1		
13	Water in swimming pool	43	0					2				
14	〃	0	0									
15	〃	9.1	0					2				
16	〃	3.6	3.6	1								1
17	River water	930	0	2								
18	〃	930,000	430			1		2		1	1	
19	Sewage	24,000,000	150,000	2				1		1	1	
20	〃	2,400,000	43,000	1				2		1	1	
21	〃	4,300,000	240,000	2			1		1	1		
22	〃	24,000,000	930,000	1				3		2	1	
	Total			34	0	4	1	21	2	13	7	3

* Figure represents the number of strains.

海水浴場の海水の全試料を通じて大腸菌群は検出され，かつ腸球菌よりも遙かに大なる MPN 値を示した。これに反し腸球菌 MPN 値は 93 の数値を示した No. 5 の試料を除けば何れもきわめて小さく，5 試料では全く検出されなかつた。大腸菌群では Escherichia I 型が総ての試料から分離され，腸球菌陽性の海水からは何れも I 型が検出された。大腸菌群菌数は鎌倉，江の島，逗子等のごとき水浴者数の多い海水浴場の試料で比較的小さく，水浴者数の遙かに少い金沢八景，平和島等で非常に大きかつた。プールの水の 4

試料では両菌群ともに 0 またはきわめて小さい数値が得られた。下水では両菌群ともに高い MPN 値を示したが，両菌群の菌数を比較すると大腸菌群の方が遙かに大であつた。下水試料では Escherichia I 型，腸球菌の I 型がそれぞれ例外なく検出された。

6. 種々の検体より分離された腸球菌の菌型別の菌株数

以上観察した種々の検体より分離された腸球菌々株の中の極く一部は，糖類分解能試験の結果定型的 3 種の菌型に分類されず，これら非定型的菌株の糖類分解能は Table 7 に示す如き 5 種類であつた。

Table 7. Fermentation of some carbohydrates by irregular type of enterococcal organisms isolated in the present study.

	Irregular type				
	I	II	III	IV	V
Mannitol	+	−	+	+	+
Sorbitol	+	−	−	−	+
Glycerol	−	−	+	+	+
Arabinose	+	+	+	−	+

種々の検体より分離された腸球菌々株数を菌型別に示したのが Table 8 である。

人の糞便からは I 型が特に多数検出されており，その他の検体の場合においても一般に I 型菌が最も多数見出されているが，ただ鮮魚介類の場合では例外的に III 型菌が I 型菌より遙かに多く分離されている。これ等種々の試料から分離された菌株は合計 304 株で，その中 93.2% は定型的な 3 種の菌型に分類された。

Table 8. Type distribution of enterococcal organisms in various sources.

Source	Type			Irregular type					Total
	I	II	III	I	II	III	IV	V	
Human feces	69	10	9	3	1				92
Raw fishes and shellfishes	18	10	35	1	1	1	5		71
Frozen foods	33	10	17		1		2		63
Ice-creams	22	4	10		2			1	39
Well waters	6	3	4						13
Coastal bathing waters	7	3	2	2					14
Water of swimming pool			1						1
River waters	1	1							2
Sewages	5	3		1					9
Total: Numbers	161	44	78	7	5	1	7	1	304
Total: %	53.0	14.5	25.7	2.3	1.6	0.3	2.3	0.3	
	93.2			6.8					

Figure represents the number of strains.

考　　　察

第 1 報[3] において著者は諸種の動物の糞便における腸球菌々数が大腸菌群菌数よりも一般に小さい事を認めているが，今回さらに人の糞便の 40 検体についても同様腸球菌々数の方が小なることを認めた。これはすでに先輩によつてなされた報告と一致するものである。また第 2 報[27]では人の糞便から分離された腸球菌においては I 型菌が最も多数を占めることを観察しているが，今回の観察ではその傾向が特に著明で，分離菌株の 75% は I 型菌であつた。種々の食品や水について腸球菌と大腸菌群との菌数を比較した処，両菌群の菌数の関係は検体によつてはなはだまちまちであつた。観察の対照となつた鮮魚介類，アイスクリーム類等の食品は細菌の発育に充分な栄養素と水分とを含有している上に，観察が夏期行われているので，これ等の指標細菌が食品に附着あるいは混入した後に低温による管理の不完全な場合には，二次的に増殖する可

能性が当然考えられる。またその増殖度は菌種および菌型によつてかなりの差異があるであろう。まぐろの刺身の場合では大腸菌群菌数が腸球菌々数よりも著しく大きかつたが，このように高い大腸菌群 MPN 値は実際に濃厚な汚染による場合もあるであろうが，ある場合にはむしろ汚染後に著しい増殖が起る可能性も考慮すべきである。この場合，腸球菌の発育の可能性もまた考えられるが，魚肉のような条件ではその発育速度の点で大腸菌群よりも遥かに劣るであろう。何れにしてもこのように両者間の著しい菌数の差は外界における両菌群の発育力の差異に起因するものであろう。分離菌株の菌型についてみると，これ等の食品からは糞便の代表的菌型である Escherichia I 型，あるいは腸球菌の I 型等は比較的少く，中間 I 型あるいは腸球菌III型等が最も多数検出されている点等もこの辺の事情を裏書きしているものと思われる。冷凍介類では一般に腸球菌の方が高い MPN 値を示しているが，これは Table 2 に示されるごとく，冷凍前の介類においてすでに腸球菌々数の方が比較的大きいことに基くものであろうが，また冷凍冷蔵過程で腸球菌の生存力の方が強い点も若干関係していると考えられる。冷凍介類からの分離菌株の菌型は Escherichia I 型，腸球菌 I 型がそれぞれ最多数を占めており，前述のごとく汚染後の発育の可能性が考えられる鮮魚介類の場合に比べると，冷凍品の方が最初の汚染の状態をより直接的に反映しているものの如くである。冷凍かきブレッデッド，まぐろスティック，茶碗むし等の検体で大腸菌群が全く検出されぬにもかかわらず，著しく多数の腸球菌が存在したことについては説明が困難であり，更に検討を要する問題と思われる。小売店等で配合調製されたアイスクリーム類の試料では多くの場合腸球菌が大腸菌群よりも著しく大なる菌数を示した。その原因は明かでないが，加熱殺菌処理及びその後の低温処理の不完全等が原因し，比較的熱抵抗の強い腸球菌が残存し，かつ発育するのではあるまいか。何れにしてもこのように多数の腸球菌が検出されることは製造処理の過程に食品衛生上の重要な欠陥があることを意味するであろう。アイスクリーム類の場合には腸球菌のI型が最も多く検出されているにもかかわらず，大腸菌群においては Escherichia I 型はほとんど見出されず，Aerobacter I 型が最も多く検出されたが，この辺の事情は明かでない。井戸水の 22 試料の中の 20 試料から大腸菌群が相当数宛検出された。しかし Escherichia I 型の検出されたのは No. 21 の 1 例のみで，その他の試料ではすべて中間型，あるいは Aerobacter 型が見出されたに過ぎない。糞便による新しい汚染のある場合には当然 Escherichia I 型が最も多く検出されるべきであり，GRAY[30] も指摘していることであるが，これ等の井戸水は糞便の汚染を受けているとしてもその汚染は相当古いもので Escherichia I 型は死滅し，生存力発育力に富む他の菌型のみが残存するに至つたものか，あるいは汚染に直接関係のない大腸菌群菌株が土壌中に分布しているので，これが井戸水に混入してきたものであるか，何れかによるものであろう。このような点から Escherichia I 型以外の大腸菌群の細菌が井戸水から検出された場合の衛生学的意義については，いささか疑問の点がある。恐らく本邦における普通の井戸水の大部分から実際には大腸菌群が検出されるのではなかろうか。これに対し，腸球菌は試験された 22 試料の中 6 試料のみから検出された。腸球菌は汚染されていない土壌中には普通存在しないといわれ，また井戸水のごとき条件では，まず発育の可能性もなくかつ比較的生存期間も短いから，井戸水から本菌の検出された場合には相当新しい汚染があつたものと考えねばなるまい。したがつて汚染の危険を確実に検知するためには腸球菌検査を重要視すべきであろう。海水浴場の海水における大腸菌群菌数は水浴者の数よりもむしろ他の要因に支配されるようである。すなわち，鎌倉，江の島，逗子等の海水浴場では水浴者が極めて多いのにかかわらず大腸菌群 MPN 値は 120～2400 にとどまり，この数字は恐らく水浴者の直接汚染による大腸菌群 MPN 値の略限界を示すものと思われる。これに対し金沢八景，平和島等では水浴者がきわめて少いにもかかわらず大腸菌群 MPN 値は常に前 3 者よりも遥かに大きいので，これ等の大腸菌群菌数はほとんど水浴者に関係なく，他に降水の流入等の大きな汚染源が考えられる。鎌倉，江の島，逗子等の海水浴場で腸球菌々数ははなはだ小さいが，これは糞便における腸球菌々数が大腸菌群よりも小さいことを端的に反映したものといえよう。金沢八景の場合，大腸菌群菌数が 6 ケ所の中の最大値を示したのに対し，腸球菌が全く検出されなかつたことについては，両菌群の外界における，生存力，発育力等の差が顕著に表現された結果とみることができる。

以上述べたようにして分離された腸球菌 304 株の中，93.2% が著者の分類法によつて 3 種の菌型に分類され

た。その中I型菌は人の糞便からの分離菌株の大部分を占めているので，本菌型が人の糞便の腸球菌の代表的なものとみなし得る。したがつて糞便による汚染を直接反映するような検体では当然I型が最も多数検出されるべきである。前述の鮮魚介類におけるごとく，Ⅲ 型菌が I 型菌よりも多数見出だされる場合には汚染が間接的なものであるか，あるいは直接的汚染があつたとしても汚染後に菌数の変化する機会が存在したものと考えられる。

以上の MPN 測定実験では各試料毎に EAC broth 陽性の試験管の中から数本宛を撰び完全試験を行つたところ，何れの場合にも腸球菌を分離検出し得たので，水，下水等の場合はもちろん，鮮魚介類その他の食品の腸球菌の測定の場合にも AYD–EAC broth method によれば完全試験を省略し得ることを認めた。食品類の大腸菌群検査の場合には完全試験まで行う必要があるので，それに比較すると，ここに述べる腸球菌検査法は時間を要せず，操作の上でも遙かに簡易である。

摘　　要

人の糞便における大腸菌群と腸球菌との菌数を比較した処，多くの場合腸球菌は大腸菌群の 1/10 以下の菌数を示した。鮮魚介類，冷凍食品，アイスクリーム類，井戸水，海水浴場の海水，その他の水について，大腸菌群と腸球菌との MPN 値を比較し，かつおのおのの検体より菌株を分離し，大腸菌群は IMVIC system により，腸球菌は著者[27]の方法によつて分類した。食品類における両菌群の菌数の関係は，食品の種類あるいは個々の検体によつてはなはだまちまちであつたが，これは外界の種々の条件における生存力，増殖力等の点で両菌群の間に著しい差異があることに基因するものと考えられる。井戸水，海水浴場の海水等では一般に大腸菌群菌数は相当検出されたのに対し，腸球菌は全く検出されぬかあるいは極少数であつた。すべての検体から合計 304 株の腸球菌を分離したが，その中 283 株（93.2%）は3種の菌型に分類された。本実験では腸球菌 MPN 測定法として，前報[26]で報告した AYD–EAC broth method を用いたが，この方法によると上記のごとき水，食品等の検査の場合に完全試験を省略し得るので，腸球菌 MPN 測定の操作は大腸菌群の場合より簡易であることを認めた。

終りに臨み，懇篤なる指導と校閲の労を執られた東京水産大学関根隆教授に謹んで感謝の意を表する。なお本研究に終始協力された野原照子氏および実験の一部を担当された佐久間彦彌，内田良の両氏に深く感謝する。

文　　献

1) Ostrolenk, M. and Hunter, A. C.: *J. Bact.*, **51**, 735 (1946).
2) Slanetz, L. W. and Bartley, C. H.: *J. Bact.*, **74**, 591 (1957).
3) 堀江　進: 本誌, **25**, 294 (1959).
4) Lattanzi, W. E. and Mood, E. W.: *Sew. and Indust. Wastes*, **23**, 1154 (1951).
5) Leininger, H. V. and Mc Cleskey, C. S.: *Appl. Microbiol.*, **1**, 119 (1953).
6) Litsky, W., Rosenbaum, M. J., and France, R. L.: *Appl. Microbiol.*, **1**, 247 (1953).
7) Litsky, W., Mallmann. W. L., and Fifield, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **45**, 1049 (1955).
8) Morris, W. and Weaver, R. H.: *Appl. Microbiol.*, **2**, 282 (1954).
9) Ritter, C., Shull, I. F., and Quinley, R. L.: *Am. J. Pub. Health*, **46**, 612 (1956).
10) Ritter, C. and Treece, E. L.: *Am. J. Pub. Health*, **38**, 1532 (1948).
11) France, R. L. and Fuller, J. E.: *Am. J. Pub. Health*, **30**, 1059 (1940).
12) Mc Cleskey, C. S. and Boyd, A. F.: *Food Technol.*, **3**, 337 (1949).
13) Wilson, T. E. and Mc Cleskey, C. S.: *Food Res.*, **16**, 313 (1951).
14) Wilson. T. E. and Mc Cleskey. C. S.: *Food Res.*, **16**, 377 (1951).
15) Ostrolenk, M., Kramer, N., and Cleverdon, R. C.: *J. Bact.*, **53**, 197 (1947).
16) Solowey, M. and Watson, A. J.: *Food Res.*, **16**, 187 (1951).
17) Kaplan, M. T. and Appleman, M. D.: *Food Technol.*, **6**, 167 (1952).

18) Ferraro, F. M. and Appleman, M. D.: *Appl. Microbiol.*, **5**, 300 (1957).
19) Larkin, E. P., Litsky, W., and Fuller, J. E.: *Appl. Microbiol.*, **3**, 98 (1955).
20) Larkin, E. P., Litsky, W. and Fuller, J. E.: *Am. J. Pub. Helalth*, **46**, 464 (1956).
21) 那須昭夫: 日本衛生学雑誌, **8**, 182 (1954).
22) 村磯旺嗣: 腐敗研究所報告, **7**, 63 (1954).
23) 松本 埣: 日本衛生学雑誌, **9**, 254 (1955).
24) 宮林 晃: 千葉医学会雑誌, **33**, 117 (1957).
25) 宮林 晃: お茶の水医学雑誌, **5**, 243 (1957).
26) 堀江 進: 本誌, **26**, 169 (1960).
Horie, S.: *This Bull.*, **26**, 169 (1960).
27) 堀江 進: 本誌, **25**, 488 (1959).
Horie, S.: *This Bull.*, **25**, 488 (1959).
28) 厚生省編: 食品衛生検査指針 (1951).
29) 厚生省編: 飲料水検査指針 (1950).
30) Gray, J. D. A.: *J. Hyg.*, **32**, 132 (1932).

抄　　録

カジカの一種 *Cottus asper* の成群構造の一例　T.G. Northcote and G.F. Hartman: *Copeia* (2), 156～158 (1959).　一般に淡水産カジカ類は若い時期には“なわばり”を形成し成群習性をもたないとみられていたが，筆者等は1958年7月17日および18日に British Columbia の Nicola 湖で *Cottus asper* が群をなして移動するのを観察した。移動は沿岸0.7マイルにわたり，従来定期的に行つていた調査の際にはみられなかつた現象であつた。両日とも，群は毎分2フィート以下の水流と反対の方向にむかい，大部分の魚は水面下数インチのところを移動していた。成群魚体は体長 26～39 mm の当才魚と思われるもので 100 尾中雄 60，雌 40 の割合であつた。水中観察の結果では大型魚は群に加わらず 10 フィート位の湖底に数尾認められた。群の移動は船の舳や掬網，あるいは水中に入つた人間によつても大してさまたげられることもなかつた。魚類の成群要因としては最近は個体相互の“ひきあい”があげられているが，本観察にあたつては集団摂餌によるための成群ではないかと思われた。それはこの群とともにコイ科やサッカー科の幼魚が移動しており，これらの幼魚が追跡されているのがみられたことなどからであるが，採集された 50 個体の胃内容物の調査では，魚体らしきものを認められなかつたので，明らかにすることはできなかつた。

（服部）

腸の脂肪酸吸収　J. M. Johnston: *J. Biol. Chem*. **234** (5), 1065～1067 (1959).　チョウセンネズミの小腸を用いて C^{14}–パルミチン酸–アルブミン複合体の吸収を観察した。重炭酸塩緩衝液およびグルコースの存在下で 37°C 2時間後の脂肪酸の分布を測定すると(粘膜側に脂肪酸を入れておく)，粘膜側に 72%，腸壁中に 11.2%，漿液側に 2.5% が分布していた。各部分における脂肪酸の形態は，粘膜側で遊離酸 83.5%，エステル 16.5%，腸壁中で遊離酸 20.4%，エステル 79.6%，漿液側で遊離酸 13.0%，エステル 87% であつた。漿液側のエステルの型はトリグリセライド 88%，ジグリセライド 11% であつたが，肝臓についての同様な実験でみられたモノグリセライドは全く認められなかつた。腸壁中のグリセライドの型の傾向は漿液側と同様であつた。粘膜側にあるグリセライドは，腸壁に一旦吸収され，そこで合成されたグリセライドが再び粘膜側に分泌されるためであると考えられる。(永山)

心筋ヘミン　J. L. Connelly, M. Morrison, and E. Stotz: *J. Biol. Chem*. **233** (3), 743～747 (1958).　心筋の不溶性ヘム蛋白の補欠分子族の分離方法を案出した。まず擂潰した組織の脂肪をクロロフォルム・メタノールで除き，少量の水を含む酸性アセトンで蛋白部分からヘミンを離し，得たヘミンの混合物をシリカカラムにより7区分に分けた(溶剤クロロフォルム・エタノール)。各区分を4種の溶媒系を用いペーパークロマトグラフにより同定し，またそれぞれの純度を検べた。各区分の吸収スペクトルおよび R_F 値から，7区分のうち，4つはそれぞれ，プロトヘミン，ヘミン a，クリプトヘミン a，プロトヘミンエステルであり，他の2つはヘミン a の誘導体，およびクリプトヘミン a の誘導体であることが確認されたが，残る2つの区分は不明であつた。(永山)

不飽和油脂における酸化防止剤の効果に対する遊離脂肪酸の影響　H. S. Olcott: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35** (11), 597～599 (1958).
NDGA と EMQ (6-ethoxy-2, 2, 4-trimethyl-1, 2-dihydroquinoline, Santoquin) の効力が，ラードと魚油とでは大いに異なる原因は，油脂中の遊離脂肪酸によるもので，基質の不飽和結合の数とか，エステル結合の形式には無関係で，精製した不飽和のエステルや trigryceride 中では NDGA は EMQ にまさつているが，trigryceride にごくわずかでも，リノール酸を加えると，酸化防止剤の効力に影響し，NDGA では特にその程度が大きくて EMQ よりも誘導期間が短かくなる。精製して遊離酸を除いた魚油では，NDGA は EMQ にまさるが，これに脂肪酸を加えると，逆の結果を示す。このような現象はリノール酸以外の数種の一塩基酸や二塩基酸についても明らかに認められ（クエン酸やリン酸のような synergist は例外），NDGA 以外の7種の供試酸化防止剤の場合にも，認められた。また，精製した数種の植物油にオレイン酸を加えると，その量の増加に伴つて安定性が減少するが，ラードではほとんど影響をうけない。以上の結果にもとずいて，その作用機構は，有極性の遊離酸と酸化防止剤が，比較的無極性の trigryceride 中で相互に密接な関係を有し，影響するという仮説を提出している。（外山）

ビタミン不含カゼイン加水分解液中の α-ケト酸　P. MacLeod and M. E. Morgan: *Science* **130**, 505 (1959).　バイオアッセイで用いられるアミノ酸源としてビタミン不含のカゼイン酸加水分解物が用いられる場合が多い。酸加水分解を行つて作られたアミノ酸溶液には α-ケト酸ができるので，もしこのようなアミノ酸溶液を培養液を培養基として用いる場合に α-ケト酸が関与するアミノ基転移酵素系がある実験の目的となる場合は，すでに培養基の中に α-ケト酸が存在していることを考慮しなければならない本研究においてはビタミン不含のカゼインを常法により加水分解した場合に生ずる α-ケト酸を　i) 2-4-dinitrophenylhydrazone 誘導体とする，ii) カルボニール誘導体のクロマトグラフ

ィーによる分離法，iii) 前述ヒドラゾーン誘導体を還元し，さらに該当するアミノ酸になしたる後沪紙クロマト法でアミノ酸を固定するなどの方法によりカゼイン加水分解液中の α–ケト酸を研究した結果，6 N HCl で 140°C, 14 時間の加水分解条件では Pyruvic acid と α–Ketobutyric acid の存在が確められた。また α–Ketoglutaric acid の前駆体になる物質は理論的にはグルタミン酸であるが，前述のような加水分解の条件では，グルタミン酸からは α–ケトグルタール酸は生成されない。(太田)

甲殻類クチクラに存在する Acid mucopolysaccharde V. R. MEENAKSHI and B. T. SCHEER: *Science* **130**, 1189 (1959). カニの脱皮 C_4 stage のものを試料に選び，Cuticle および消化腺に存在する Polysaccharide を研究した。Cuticle は FRAUKEL et al. が昆虫について行つた方法により調製し Polysaccharide は粉末にした Cuticle ならびに消化腺のアルカリ抽出物からアルコールにより沈澱させて採取する。Polysaccharide は pH 5.0 で沪紙電気泳動法により分離する。Polysaccharide の確認は Köiw ならびに GRONWALL の方法，または HAUMERMAN の方法によつた。Polysaccharide が構成する糖類の研究は HU の方法による。前記電気泳動法によれば Acid-mucopoly-saccharide と glycogen が分離される。また加水分解した Polysaccharide からは fucose, galactose, glucose が確認され，定量的には glucose が最も多い。また消化腺と Cuticle の比較では両者とも Acid mucopolysaccharide を含みその組成も一致する。消化腺には glycogen が存在し，Cuticle はほとんど含まない。Cuticle 中の Acid mucopolysaccharide は dry matter で計算すると 100g 中平均 937 mg である。消化腺では 671 mg であり，全 Polysaccharide の 10～25% に相当する。著者らはこれらの観察から Acid mucopolysaccharide がカニの Cuticle に存在するのは Cuticle 中での石灰化に重要な役割を果していると予想している。(太田)

Folic acid の精製 W. SAKAMI and R. KNOWLES: *Science* **129**, 274, (1959). 市販の葉酸には多くの不純物が混入しており，これらの不純物の中には葉酸の光分解により生じたものなども含まれる。すでに知られているものの1つとして 2–amino–4–hydroxy-pteridine–6–aldehyde 等とあげられている。本報告では葉酸を Cellulose powder のカラムクロマトで不純物の大部分を除去し，さらに Charcoal で純度を高め得ることを証明している。これらの不純物が除去されたか否を知るためにペーパー・ク[illegible]物としてすでに知られている *P*–amino-benzoyl glutamic acid (PABG) の定量が採用されている。精製法は市販葉酸 550 mg を 30 cc の水に懸濁し，1 N NaOH を加えて葉酸を充分に溶解させた後，該液の pH を 7.0 に調製する。つぎに Cellulose powder をつめたカラムにこの溶液を通し，黄色の Foliate を集める。本法によれば市販葉酸に含まれる P. A. B. G. の含量を 0.02% 以下におさえることが可能である(市販葉酸は一般に 1～2% の P.A. B.G. を含むといわれている)。また残存する不純物は活性炭 Darco G–60 を用いて除去することができる。(太田)

下水泥土中のビタミン B_{12} S. SATHYANARAYANA, C. A. SASTRY, H. N. BHAGAVAN and B. R. BALIGA: *Science* **129**, 276 (1959). 下水泥土中のビタミン B_{12} について，無処理の泥土のほかに石灰乳や明礬で処理せるもの，腐敗土および活性泥土等の B_{12} 含有量を比較検討した。とくに活性泥土から分離した Protozoa の一種 *Epistylis* sp. もこれを洗滌して試料の1つにした。B_{12} は *Lactobacillus leichmannii* ATCC 4797 で測定したが，最も含有量の高かつたのは活性泥土であり，これにつぎ Protozoa である。その含有量は前者が 100 g 中 76.21γ で，後者は 46.12γ である。筆者らは養鶏，養豚の補足飼料として推賞している。(太田)

ムラサキイガイ中の β–aminoiso butyric acid の存在 J. AWAPARA and K. ALLEN: *Science* **130**, 1250 (1959). 著者らは白血病患者に Nitrogen mustard または Thymine を大量に与えると Methyl-bis〔β–chloroethyl〕amine hydrochloride の排泄を認めることを発見し，β–アミノ酸に興味を持つた。海産無脊椎動物の窒素代謝の研究中にムラサキイガイのエキスから β–amino-isobutyric acid をペーパクロマト法で検出することができた。その方法はムラサキイガイの 80% アルエールエキスを試料とし，これをアンバライト CG–50H+ で処理して塩基性化合物を除去し，さらにこのものを Dowex 50 H+ を通過させてタウリンならびに強酸性物質以外のアミノ酸を除去した試料を数種の展開剤を用いてペーパクロマトを行い，β–amino-isobutyric acid を検出するほか，DNP 誘導体を Sager 法で作り，このペーパークロマトが β–amino-isobutyric acid であることを両確認している。またペーパクロマト法で分離したものを定量することも同時に実施し，ムラサキイガイの各組織，器管などに分布する該物質の含有量を報告した。その結果，ムラサキイガイの各部に存在していることならびにβ型アミノ酸の存在は β–アラニンと同様に Thymine や Uracil の Catabolized substance であろうと予想している。(太田)

獣肉の軟化 III. パパインによるアクトマイオシン，アクチンおよびコラーゲンの加水分解 C. C. TSEN and A. L. TAPPEL: *Food Research*., **24**, 362～364 (1959). Actomyosin, actin および collagen の諸種酵素 (papain, bromelin, trypsin, chymotrypsin—以上結晶—fucin, rhozyme P 11, protease 15, rhozyme A 4) による被分解性が検討された。反応系は，一般にはほとんど同様で，pH

は trypsin, chymotrypsin の場合は 8.04 に，他は 6.0 に調整され，papain, bromelin および fucin の場合には賦活剤が加えられた。分解率は三塩化醋酸除蛋白液について，ニンヒドリン法で定量されたアミノ酸量によつて求められた。すなわち，actomyosin は protease 15 以外の酵素によつて容易に加水分解された。その中 papain による分解率が最大で，60°C までは ARRHENIUS の関係式にしたがう。反応の活性化エネルギーは 1 モル当り 6.5 kcal で他の蛋白質に対する場合よりも低かつた。Actin, collagen は，papain によつて僅かしか分解されなかつた。（太田）

***E. Coli* に対する凍結，融解の影響**　H. W. BRETZ and S. E. HARTSELL: *Food Research*., **24**, 369～375 (1959).　*E. Coli* の燐酸緩衝液浮游液 5 *ml* を中試験管にとりアルミニウムの蓋をし，−25°C で凍結，−9°C に保管，一定期間後そのまま，または種々の溶液（融解液）を加えて 37°C の水浴中で融解し，これに水または他の溶液（稀釈液）を加えて稀釈後，その一部をとつて平板培養し集落数を測定した。そのまま融解させ，稀釈液に 10% Sucrose 溶液を用いた時の菌数は燐酸緩衝液（M/2, M/15 ともに pH 7.0）の場合より多少多く，また燐酸緩衝液では M/2 の時に M/15 の場合よりもわずかに多かつた。また，融解液および稀釈液を加えた場合の結果では，いずれも Sucrose を用いた時の菌数が，緩衝液の場合よりもはるかに多く，かつ Sucrose は，緩衝液では防ぎ得ない再凍結，融解による菌の発育傷害に対しても明らかな保獲作用を示した。融解液として Maltose および Glycerol の 1 M 溶液を用いた場合の発育菌数も Sucrose の場合と同様であつた。すなわち，発育菌数は融解液および稀釈液の滲透圧の大きさに影響される。融解液および稀釈液の保護作用は，その pH，試験菌株，および融解後培養までの時間などによつて相異した。凍結試料についての結果の変動は，非凍結試料の場合よりも大きかつたが，これは凍結細胞が，融解または稀釈処理中に，操作によつて回生され，また破壊もされるというような鋭敏な異常状態におかれたためと考えられる。（太田）

筋肉中のエピネフィリンの抗自己分解効果—添加法によらない動物肉の薬剤貯蔵　C. R. THOMS, C. L. DOROLLE, R. ZENDER, R. BUSSET, H. M. MEYER and R. F. MOUTON: *Food Research*., **24**, 453～482 (1959).　屠殺前にエピネフィリンを筋肉注射された数種動物肉の，死直後と各種温度（4°C, 25°C および 38°C）に防腐，嫌気状態で貯蔵後数週間における代謝，組織および外観等の変化が研究された。すなわち，薬剤処理肉は死後の自己分解的変化を抑制し，その程度は薬剤処理後屠殺するまでの時間および薬剤施与量によつて相異した。屠殺 4 時間前に 250γ/kg を施与した骨骼筋肉の変化を対照肉に比較した結果によると，対照肉では，正常な死後変化をなし，pH の低下，体液の滲出等の第一段階から自己分解作用の進行，組織的および感応的変敗に至る変化が観察されたが，薬剤処理肉では，pH の低下，体液の滲出はほとんどなく，かつアミノ酸の生成も少なく，glycine 可溶蛋白質の電気泳動図にも対照肉におけるような変化は見られず自己分解作用の著しい抑制が観察され，このことはまた組織的観察からも裏付けられた。また外観検査，食味試験の結果からも明らかに品質の優位性が認められた。すなわち，エピネフィリン処理された動物肉は，無害かつ高温における長期貯蔵中にも変質し難いから，この処理にあわせて微生物作用の防止が講ぜられるならば，動物肉の流通を一層確実に広く発展させることができるであろう。（太田）

淡水魚の一般成分 II. 湖産および河産魚類 21 種の比較結果　C. E. THURSTON, M. E. STANSBY, N.L. KARRIC, D.T. MIYAUCHI and W.C. CLEGG: *Food Research*., **24**, 493～509 (1959).　11 の湖，2 つの河から漁獲された21種類の魚類について，物理的状態 (1)，フイレーの一般成分 (2)，フィレーの Na, K 含量 (3)，非可食部分の一般成分 (4) 等が調査分析された。(1) 試料魚は，長さ 18.7～68.7 cm，重さ 100 g～10 kg の範囲にあり，1500 g 以上の大型魚，500～1500 g の中型魚，500 g 以下の小型魚の 3 群に分けられる。フィレーの収量は24.5～39.3% で，大部分は約 30% であつた。(2) 水分含量は二，三の例外を除けば変動が少なく，大部分は 75～82% で，平均 78% であつた。一般に水分量と脂肪量とは互に相反して変動し，これら両者の合意は 80～83% であつた。成分中最も変動の大きかつたのは脂肪量で，0.7～63.5%，多くは 5% 以下，6 種類は平均 5% 以上，3 種類は平均 10% 以上であつた。蛋白質含量は 5.9～22.1%，大部分は 16～19%. 平均 17% であつた。(3) 8 種類についての結果では，Na は 42～95 mg%，平均 58 mg%，K は 232～418 mg% で平均 297 mg% であつた。(4) 水分量は 58.0～78.9%，脂肪量は 5.2～27.6%，蛋白質含量は 12.3～17.8%，灰分量は 1.7～9.3% であつた。要するに淡水魚類の一般成分は，魚種，および同種のものでも個体により著しく相異する例外もあつたが，一般にはほとんど同様であつた。（太田）

解凍豚肉から得られたドリップ中のビタミンおよびアミノ酸含量　A. M. PEARSON, R. G. WEST and R. W. LUECKE: *Food Research*., **24**, 515～519 (1959).　豚肉を約 −18°C にて凍結貯蔵し，一定期間後 +2°C で解凍し得られたドリップ中のアミノ酸およびビタミン類を，微生物的方法または化学的方法で定量し，肉中全量に対する損失率を求めた。ドリップ量は個々の切肉によつて相異し，6.35～12.4% であつた。ビタミンの損失率は riboflavin の 4.15% が最も小さく，niacin の 10.69% が最大であつた。総 B_6 のそれは 8.71% であつた

が，その中 Pyridoxine および Pyridoxamine の含量は 16.56%，Pyridoxal は 6.12% であつた。またアミノ酸の損失率は tryptophan の 7.15% が最小，iso-leucine の 11.08 %が最大であつた。以上の各損失率の相異には，個々のアミノ酸やビタミンの水に対する溶解性よりも，それらの結合型のものの流出性が関係していると思われる。(太田)

乳酸菌の培養中に生産される抗生物質 J.G. VINCENT, R. C. VEOMETT and R. F. RILET: *J. Bact.*, **78** (4), 477～484 (1959).　兎，ハムスター，マウス，ラット等の腸管内から分離した乳酸桿菌の一種*Lactobacillus acidophilus* を liver veal agar に培養すると，一種の抗生物質を生産する。この物質を便宜的に lactocidin と命名した。lactocidin の生産量は兎とハムスターから分離した菌株が一番多く，つぎはラットからの分離菌であつて，マウスからの菌株が一番少なかつた。この抗生物質の定量法は *Streptococcus faecalis* を用いて比濁法により測定し，*S. faecalis* の発育をちようど半分阻害する量を1単位とした。産出された抗生物質は寒天に固く結合しているようであつて，最初酸溶液で抽出する。精製のために活性炭，酒石酸カルシウム，イオン交換樹脂を用いようとしたが成功しなかつた。有機溶剤では抽出されず，むしろ破壊される。精製には珪酸を用い約 10 倍に純化することができた。この物質の抗菌スペクトルは一般的に腐敗菌より病源菌の方が敏感である。またグラム陽性菌よりグラム陰性菌の方が阻害され易い。(横関)

Hydroxy-L-proline と proline の新しい分離調製法 M. LEVINE: *J. Biol. Chem.* **234** (7), 1731～1732 (1959).　ゼラチン 500g を 6N HCl 3*l* で 20 時間加水分解し蒸溜して 2*l* に濃縮し活性炭で脱色する。この液 1*l* を 60°C に保ち攪拌しながら，$NaNO_2$ 300g を水 350ml にとかした溶液を 3.5 時間かかつて滴加し，さらに2時間攪拌する。濃 HCl 等容を加え淡黄色になるまで蒸溜濃縮する。分解液の残りも同様に処理し合してさらに濃縮する。NaCl が析出してきたら沪除し，1*l* 以下に濃縮後，エーテルで数回洗滌し，シロップ状に濃縮する。濃縮液を熱アルコール 300ml に入れ沪過し真空濃縮する。6N HCl 100ml を加え，蒸溜濃縮を繰返す。Dowex 50 X 8 (200～400 メッシュ) のカラム (径 9.5cm，高さ 80cm) を用い，0.5N～1N (12.5*l* ミキサー) の gradient elution を行う。hydroxyproline および proline の塩酸塩を含むフラクションをそれぞれ集め，真空濃縮し，水で稀釈し再度濃縮した後 Amberlite IR 4 B (free amine 型) カラムを通して HCl を除く。hydroxyproline は活性炭で脱色し，アルコールで2回再結し，ゼラチン 100g から 5.7g の結晶を得る。proline は蒸発乾燥後，アルコールに溶かし，活性炭で脱色し，エーテルで結晶させ，2回再結する。収量はゼラチン 100g から 6g である。いずれも不純物を検出しない。(永山)

肝臓中のビタミン A エステルおよびビタミン A アルコールと蛋白との結合 S. KRISHNAMURTHY, S. MAHADEVAN and J. GANGULY: *J. Biol. Chem.* **233** (1), 32～36 (1958).　肝臓の 0.25M 蔗糖抽出液を 30% 酢酸鉛，40% 塩化水銀，0.5M スルフォサリチル酸，5% TCA (何れも終濃) で処理すればビタミンAは全て沈澱する。硫安 0.5 飽和ではほとんどのビタミンAは沈澱するが蒸溜水で完全に再溶解する。種々の蛋白変性剤で処理するとビタミン A はヂエチルエーテルで抽出される。16% エタノールあるいな 0.14M サリチル酸ソーダで処理した場合には，エステル型は完全に抽出され，アルコール型は 50～60% しか抽出されない。変性剤濃度が高くなれば完全に抽出される。両型とも pH 5.0 で 95～99%；pH 6.9 で 23～20% が沈澱するが pH 6.0 ではエステル型が 81%，アルコール型が 45% 沈澱する。蛋白の沈澱はアルコール型と類似の傾向でてる。−25°C に凍結，24 時間後融解すれば全てジェチルエーテルで抽出される。また 18% エタノールで全てのビタミンAは 23% の蛋白とともに沈澱し，さらにこの沈澱は冷バッファーに再溶解する。肝臓はエステル型を多量に貯蔵し，アルコール型は少い。エステル型とアルコール型が結合するリポ蛋白はそれぞれ異議のものと考えられ，またビタミンA一蛋白の結合は，脂質一蛋白の結合よりも弱いものと思われる。(永山)

グルコース-6-燐酸 (Ba) の結晶調製法 M. ORLOWSKI: *J. Biol. Chem.* **234** (7), 1651～1652 (1959).

下面酵母 800g を 10% グルコース溶液 100ml に懸濁させ，40% 蔗糖液 1*l*，pH 7 の 0.67M 燐酸 Na 溶液 1*l* を加，無機燐が消失するまで 37°C に保つ。4時間以内に反応が完了しなければ酵母を追加する。反応完了後 TCA を終濃度 4% になるように加え冷却し沈澱を除く。沪液を中和し酢酸 Ba 240g，エタノール 1/10 容を加え，生じた沈澱はエタノール，アセトンで洗滌乾燥する (I)。沪液はエタノール2容を加え生じた沈澱を集める (II)。II を N.HCl に溶かし硫酸 Na を加え生ずる硫酸 Ba を除き，沪液を N.HCl でエステル 20g 当り 100ml にする。100°C，6時間加水分解し炭酸 Ba，水酸化 Ba で中和し沈澱を除き，活性炭を加え 70°C に熱し脱色沪過する。沪液にエタノール2容を加え沈澱を集める(III)。III を 0.5N HCl に溶かし不溶物は除き，NaOH で中和する。G6P·Ba が結晶しはじめる。4°C に 24 時間保ち，結晶を集め少量の冷水で3回洗い空中で乾燥する。結晶 14～15g を得る。さらに I から抽出を行えば 2～3g の結晶が得られる。I の不溶物の 50～60% は FDP である。本法により得られた G6P·Ba は再結しないものでも 98% の純度を示し，無機燐，$\Delta_7 P$，F6P は全く混在しない。(永山)

雑　　録

○ 1月関東在住役員会

1. 開催日　昭和 35 年 1 月 22 日
2. 場　所　東京水産大学会議室
3. 出席者　田内会長　他 16 名
4. 議　事

a. 昭和 35 年度評議員の支部別員数について。

昭和 35 年 1 月 19 日現在の会員数による支部別評議員数を下記の通り決定した。

北海道支部	7名	近　畿　支　部	5名
東　　北　〃	3〃	中国・四国　〃	6〃
関　　東　〃	16〃	九　　州　〃	6〃
中　　部　〃	7〃		

b. 入会承認

個人　7名

○ 1月関東在住緊急役員会

1. 開催日　昭和 35 年 1 月 30 日
2. 場　所　東京水産大学会議室
3. 出席者　田内会長　他 14 名
4. 議　事

a. 1960 年度第 6 部関係国際学術会議派遣代表候補者について。

さきに第6部関係国際会議のうちから，本学会に関係ある会議を挙げたが（第 26 巻第1号雑録参照），これに出席を希望する会員のうちから，招請状，旅費の負担状況等を考慮して，つぎのように候補者をきめ，学術会議に申請した。

1. 第2回国際獣医食品衛生学会議
   (1)　富山哲夫（九大）　(2)　河端俊治（予研）
2. 国際海洋探査会議 50 回年次会
   (1)　佐々木忠義（水大）

なお，イオン化放射能の生物学的影響に関する国際会議については，招請状等が来て個人申請があったときに審議することとし，今回の学術会議の申請には加えないことにした。

○日本水産学会関東支部1月例会

1. 日　時　昭和 35 年 1 月 26 日（火）
2. 場　所　東海区水産研究所第二会議室

二重刺網の形状におよぼす波浪の影響　—波の進行方向と平行に網地を入れた場合—

野村正恒・森敬四郎・武富　一（東水研）

シンポジウム予告

(昭和 35 年度年会)

○ 生物環境シンポジウム（日本海洋学会と共催）

1. 日　時　4月7日　09.00～12.30
2. 場　所　東海区水産研究所　第一会議室
3. 課　題　黒潮縁辺の冷水塊

○ 水族生理学シンポジウム

1. 日　時　4月6日　09.30 より
2. 場　所　東京大学教養学部
3. 演題および講演者

課　題　放射能と水産生物

1. 海洋汚染と水産生物への放射能の移行過程について
°松平近義・津田　勉・渡辺競一（東北大）
2. 海水中の放射性物質の吸収と食物連鎖　岡田弥一郎・°上野福三・辻井　禎（三重県大）
3. 九州南方海域における魚類の放射能汚染の消長と検出される核種について
°斎藤　要・高田幸二・鮫島宗雄（鹿児島大）
4. 未　定　檜山義夫（東　大）
5. 水中 P^{32} の各種酸可溶性燐化合物への移行について　富山哲夫（九州大）
6. 貝類の ^{45}Ca, ^{32}P 代謝について　堀口吉重（三重県大）
7. 放射線照射による真珠の色の改良について　岡田弥一郎・堀口吉重・°辻井　禎（三重県大）

○ 水産増殖談話会シンポジウム

1. 日　時　4月7日　09.30～12.30
2. 場　所　東海区水産研究所　第二会議室
3. 課　題　「増殖技術の実用化における諸問題」
・・・・ノリ人工採苗を中心として・・・・

○ プランクトンシンポジウム

1. 日　時　4月7日　13.30 より
2. 場　所　東海区水産研究所　第二会議室
3. 課　題　「深海のプランクトンについて」

（註）尚，以上は多少変更される見込み

網糸の磨耗

本多勝司

(1959年12月8日受理)

WEARING TEST OF NETTING THREADS

Katsuji HONDA*

Cotton threads were twisted by trial twister in the state of balancing upper with lower twist (Tab. 1, Fig. 2). These were weared by the apparatus as shown in Fig. 1. Both values of r/r_0 and T/T_0 are decreased in accordance with the increase of times in friction (Figs. 3, 4). Generally the thick threads are easy to wear compared with the fine (Fig. 4). As to threads in market the next experimental formula was usually determined,

$$r/r_0=\sqrt{T/T_0}$$

but in this case above formula was not satisfied (Figs. 3, 4). It is supposed that the samples used are not completely compacted as these are produced by the way of experiment.

網糸を砂と摩擦させるとき起る網糸の太さ，強さの変化およびそれらと撚との関係を知るために，綿20 S単糸の 12, 15, 18, 21 および 24 本合せの3子の上下撚の釣合つた網糸を作り，それを Fig. 1 に示す装置で砂と摩擦させた。

網糸を作るには，単糸1本当りに 5g の荷重をかけ，試作の張撚機を用いて，下撚を 1m 当り 100～900 回とし，それらに釣合う上撚をかけた (Table 1)。そのときの上下撚数をそれぞれ N および n とすると実験に用いた撚糸の上下撚数の関係は左，右撚について一般に $n=a10^{bN}$ で表わされ (Fig. 2), a および b は Table 2 に見られるように単糸数によつて異なる常数である。

糸と砂とを摩擦させるには，まず試験糸を真水に 24 時間以上浸漬し，つぎに Fig. 1 に示すごとく糸を砂の入れてある箱 C を通し，適当の張りを持たせて A, B のチャックに固定し，さらに B の取付棒の両端に2本の糸を取付け，これをプーレー P を通して荷重 W を吊し，モーターを駆動して，チャック AB の取付枠 D を往復運動させた。その際糸が常に湿潤状態にあるようにするために時々砂箱に水を注いだ。測定は所定の摩擦回数後，糸の太さ**および強さを測定した。

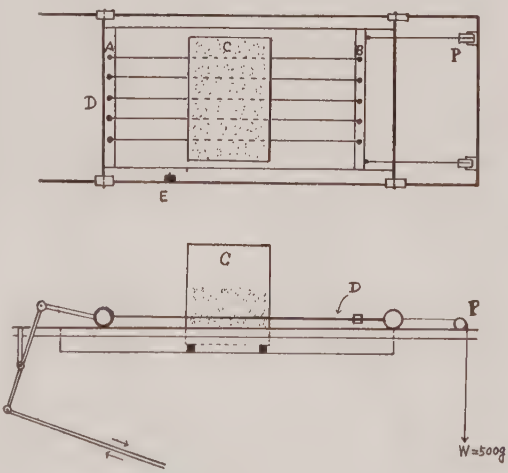


Fig. 1. Testing apparatus.
A, B, Chuck; C, Sand box; D, Movable frame; E, Counter; P, Pulley.

* 東京水産大学 (Tokyo Univ, Fish., 6-Shibakaigandori, Minato-ku, Tokyo).
** 太さ（径）を測るには単糸1本当り 1g の荷重をかけた。

Table 1. Given and measured twist number per one metre.

網　糸 Varieties of thread	右撚 Left handed twist				左撚 Right handed twist			
	与撚数 Given twist number		実撚数 Measured twist number		与撚数 Given twist number		実撚数 Measured twist number	
	下撚 Lower twist	上撚 Upper twist	下撚 Lower twist (n)	上撚 Upper twist (N)	下撚 Lower twist	上撚 Upper twist	下撚 Lower twist (n)	上撚 Upper twist (N)
3 plies 12 yarns	100	121	114	143	200	94	127	84
〃 〃 〃	200	169	243	199	300	122	186	132
〃 〃 〃	300	195	375	247	400	147	270	158
〃 〃 〃	400	223	479	303	500	153	368	177
* 〃 〃 〃	500	240	582	318	600	163	489	190
〃 〃 〃	600	255	816	318	700	173	610	217
〃 〃 〃	700	260	934	314	800	188	720	238
					900	204	912	266
〃 15 〃	100	117	124	144	200	92	114	101
〃 〃 〃	200	157	238	196	300	122	198	131
〃 〃 〃	300	186	360	229	400	146	289	159
〃 〃 〃	400	209	486	276	500	140	354	165
* 〃 〃 〃	500	213	643	278	600	155	526	190
〃 〃 〃	600	214	765	280	700	169	660	213
					800	175	816	230
〃 18 〃	100	122	122	144	200	89	117	96
〃 〃 〃	200	166	234	183	300	116	200	125
〃 〃 〃	300	186	349	220	400	127	300	150
* 〃 〃 〃	400	196	403	250	500	127	431	164
〃 〃 〃	500	190	662	259	600	146	574	188
〃 〃 〃	600	188	874	288	700	154	740	206
〃 21 〃	100	105	106	130	200	87	120	86
〃 〃 〃	200	150	231	166	300	111	205	131
* 〃 〃 〃	300	165	372	206	400	124	320	150
〃 〃 〃	400	171	526	235	500	128	459	165
〃 〃 〃	500	171	658	248	600	138	585	193
〃 〃 〃	600	161	881	254				
〃 24 〃	100	103	115	130	200	87	122	90
〃 〃 〃	200	140	236	172	300	109	210	127
* 〃 〃 〃	300	159	374	206	400	121	329	147
〃 〃 〃	400	160	531	224	500	125	475	162
〃 〃 〃	500	155	678	232	600	132	640	181

* Maximum in strength.

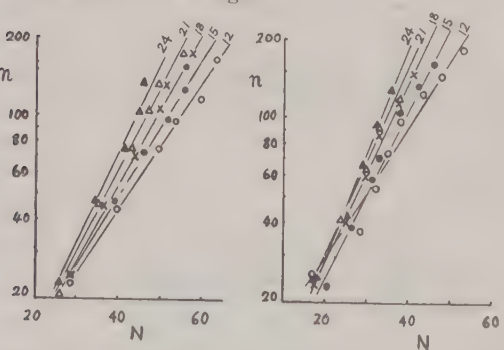


Fig. 2. The relation between n and N per 20 centi-metre.

[Left] Left handed twist, [Right] Right handed twist, n; Lower twist; N, Upper twist (see Tab. 1). Numerals associated with straight line are yarn number.

Table 2. Values of a and b in $n = a\,10^{bN}$.

網系 Varieties of thread	a	b
右撚 Left handed twist		
3 plies 12 yarns	4.30	.0248
15 〃	4.60	.0260
18 〃	3.70	.0289
21 〃	3.50	.0314
24 〃	2.90	.0345
左撚 Right handed twist		
3 plies 12 yarns	8.70	.0256
15 〃	5.50	.0319
18 〃	5.80	.0334
21 〃	5.30	.0370
24 〃	4.40	.0405

糸の始めの太さ r_0 と n 回摩擦後の太さ r との比 r/r_0 と摩擦回数 n との関係は Fig. 3 のようで，いずれの撚糸でも摩擦回数 500 回までに太さは急に減少し，それ以後は減少は緩かである。また右撚糸の方が撚数による違いが少ないようである。摩擦の初期に径の減少が大きいのは，初期においては，糸が砂と擦れて径が減少するよりは，荷重によつて伸ばされる径の減少の方が大きいためであろう。さらに下撚数の多いものほど r/r_0 の値が大きい。

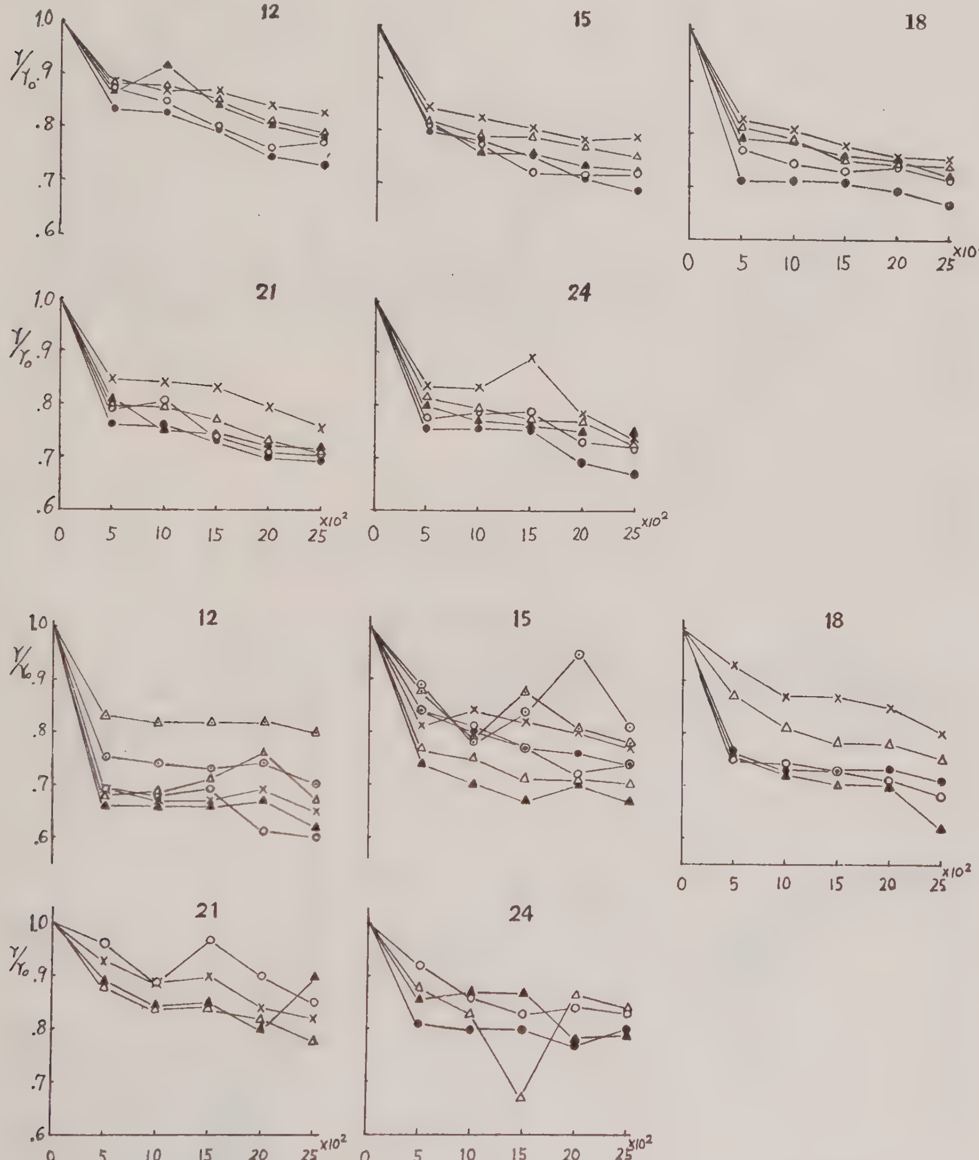
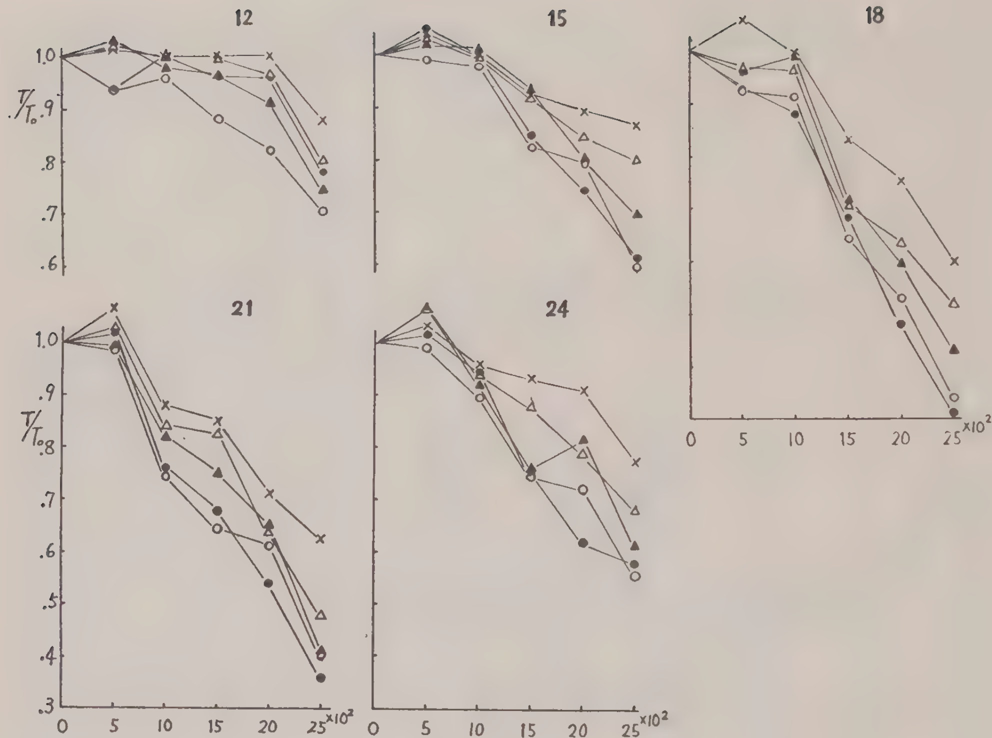
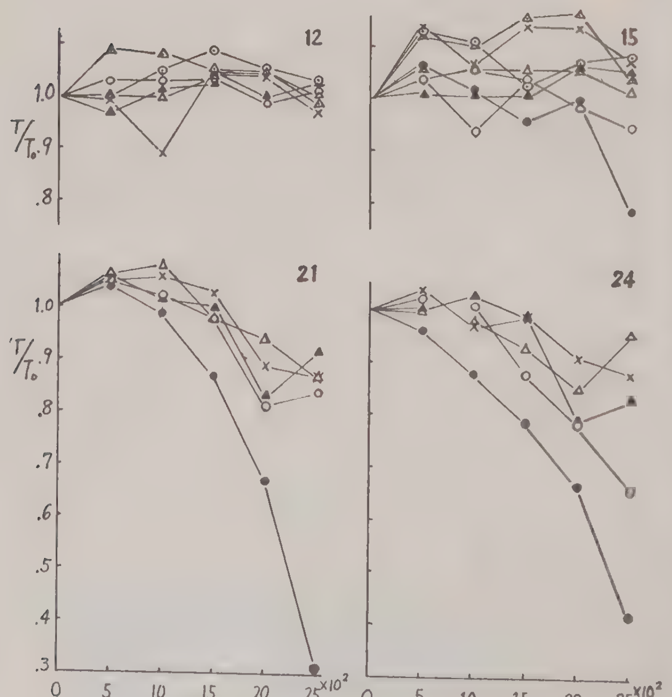


Fig. 3. The relation between r/r_0 and number of times in friction (abscissa). Diameter of thread before treatment and after n times treatment are denoted by r_0 and r respectively. [Upper] Left handed twist, [Lower] Right handed twist. Gothic numerals show number of yarns. Marks with ●, ○, ▲, △, ×, ⊙ and ⚠ show 100, 200, 300, 400, 500, 600 and 700 times in twist respectively. This marks are used throughout Figs. 3 and 4.





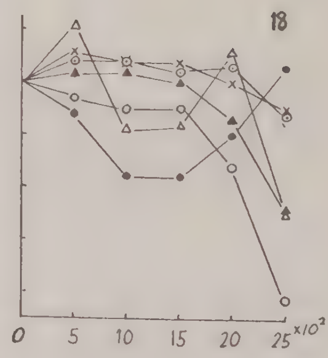


Fig. 4. The relation between T/T_0 and number of times in friction (abscissa).

Breaking strength before treatment and after n times treatment are denoted by T_0 and T respectively.

[Upper] Left handed twist.
[Lower] Right handed twist.
Gothic numerals show number of yarns.

糸の始めの強さ T_0 と n 回摩擦後の強さ T との比 T/T_0 と摩擦回数 n との関係は Fig. 4 のようで，摩擦回数の増加につれて強さは減少し，太さのばあいと同様下撚数の多いものほど T/T_0 の値が大きい。このことは撚の甘いものが磨耗されやすいことを示している。* また，左撚糸の方が撚数による違いが大きく，左右いずれの撚糸でも摩擦回数の少ない間は減少がほとんどみられなく，むしろ増加のばあいがみられ，ことに糸の細いものではこの傾向が著しい。 Fig. 4 より明らかなように糸の細いものの方が太いものに比べて磨耗しにくいようである。

この実験では糸と砂を摩擦させて r/r_0 が小さくなるほど，それに対応する T/T_0 も小さくなるが，Fig. 3 と Fig. 4 を比較すると見掛上 $\frac{r}{r_0}=\sqrt{\frac{T}{T_0}}$ が成り立たないようである。$\frac{r}{r_0}=\sqrt{\frac{T}{T_0}}$ が成り立つことは市販糸について実証されたが，それではでき上り糸が十分に締つている。ところが，この実験に供せられた糸は試作品であるために，糸の締りは十分でない。摩擦回数の少ないところで急激に r が縮少することはこの現われである。したがつて，このばあいの r は上の式に用いられる r とは意味が異なるように思われる。この点今後の研究に待つことにする。

終りに本実験について御指導並びに御校閲を賜わりました本学名誉教授田内森三郎博士，および実験を手伝つて下さつた高山清直，波多野広平，石田善久，羽山泰夫の諸氏にそれぞれ深謝する。

---

* 近藤の結果（日水学誌，**5** (6), 1957）と一致する。

STUDIES ON THE KINEMATIC BEHAVIOUR OF THE GROUND ROPE OF THE TRAWL NET—II.

Otohiko SUZUKI and Tasae KAWAKAMI*

(Received Dec. 9, 1959)

In such a kind of trawl net as is towed after the net has been laid out on the sea bottom, it is supposed that the kinematic behaviour of the sweeping rope of the net is composed of the transient process and the stationary state. Moreover, considering the transient process in detail, it can be divided into two durations, i.e., the first duration may be from the laying out of the sweeping rope to the stage that the deformation propagates to the wing tip, and the second is from the arrival of the deformation at the wing tip to the movement of the whole net. Thereafter, the sweeping rope will creep on the surface of the sea bed keeping the stationary shape.

The first duration of the transient process was discussed previously, this paper deals with the second duration.

Theoretical Consideration

According to the first five equations in the solutions deduced in the previous paper[1], the ratios of the quantities, a, r and s, which characterize the configuration of a deformed sweeping rope to the towed distance l are decided simply by the ratio $2\nu(=K_t/K_n)$. In other word, the curved rope keeps a fixed or a geometrically similar shape corresponding to the value of ν irrespective of the towed distance, namely the linear size of the deformation varies proportionally with l. It can be considered that this fact holds also in this case.

Suppose a stage of deformation when the direction of the rope deviates an angle θ from the original direction AO at the terminal point, A, of the rope as shown in Fig. 1, as a result of further hauling of the warp after the deformation of the rope reached the wing tip. Next, suppose a imaginary part, AA_i, of the rope extended under the same condition, in place of the net at the point A. Then the whole curve, A_iAB, obtained by connecting the real and the imaginary

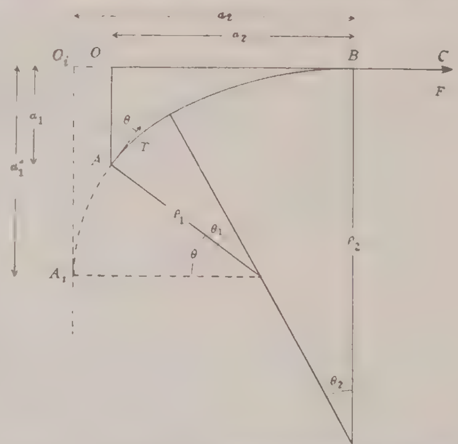


Fig. 1. Schematic representation of the sweeping rope. Broken line, AA_i, denotes the imaginary part of the rope.

* Dept. of Fish., Kyoto Univ., Maizuru, Japan. (鈴木乙彦・川上太左英，京大水産)
This study was supported partly by the grant from the Ministry of Education.

rope may coincide with the curve of rope discussed in thc previous paper; thus the real part should be a part of the full curve.

Then the dimensionless lengths A_iO_i and O_iB which are denoted by α_1' and α_2' respectively may be given by

$$\alpha_1' \equiv a_1'/l = \alpha_1 - \rho_1 \sin\theta\,, \tag{1}$$

$$\alpha_1' \equiv a_2'/l = \alpha_2 - \rho_1(1-\cos\theta)\,. \tag{2}$$

Experimental Result

Three experiments in which three leads of different weight were used respectively at the end of the rope instead of the net were made in the same manner as in the previous report. The weights of the leads were 1 g., 2 g. and 3 g.

A verification of the consideration mentioned above will be made by comparing the theoretical value of α_2' with the observed value. Since the values of α_1, α_2 and ρ_1 have been given theoretically by the value of ν, the angle θ can be determined by the use of the equation (1) and the value of α_1' in relation to the experimental conditions.

Thus, the numerical value of α_2' was computed by the relation (2). On the other hand, the observed value of α_2' was obtained photographically. The comparison of the theoretical values of α_2' with their observed values is made in the annexed table. Taking the accuracy of the measurement into account, the discrepancy between them seems to be allowable.

Table 1. Theoretical value α_2' and observed value $\alpha_2'^*$.

Weight of the lead	1 g.		2 g.		3 g.	
l	α_2'	$\alpha_2'^*$	α_2'	$\alpha_2'^*$	α_2'	$\alpha_2'^*$
30 cm.	2.65	2.45	2.65	2.55	2.67	2.62
34	2.65	2.50	2.65	2.94	2.64	2.85
38	2.61	2.55	2.61	2.71	2.60	2.68
42	2.56	2.55	2.56	2.55	2.55	2.64
46	2.51	2.46	2.51	2.92	2.50	
50	2.46	2.64	2.46		2.45	
54	2.41	2.78	2.41		2.40	
58	2.36	2.95	2.36		2.35	

AO=65 cm. The vacant spaces mean that the values were so vague that they could not be measured accurately.

In this process of deformation, the components of the force that act so as to spread the net as well as to make it headway were computed by using the tension, T, and the deviation angle, θ, at the terminal point, A, of the rope. Fig. 2 shows the relation of these components, $T\sin\theta$ and $T\cos\theta$, to the towed distance l, where T was

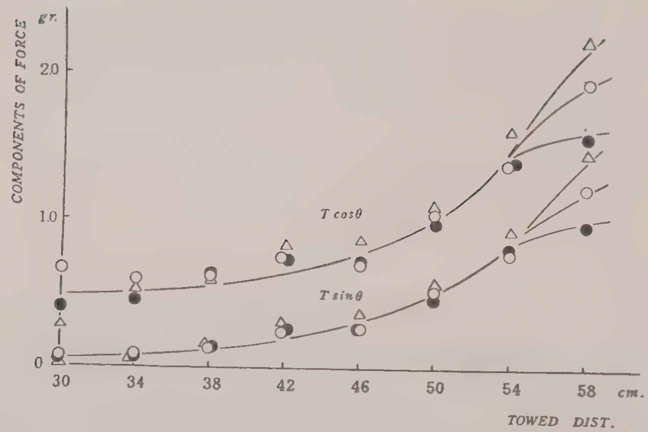


Fig. 2. The relation of the components of force at the end of the rope to the towed distance. Lead Weight: 1 g. ●, 2g. ○, 3 g △. $T\cos\theta$, spreading force; $T\sin\theta$, advancing force.

calculated by deducting the tangential friction en route from the pulling force F.

Reference

1) KAWAKAMI, T. and O. SUZUKI: Studies on the kinematic behaviour of the ground rope of the trawl net-I. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **25**, 413–416 (1959).

魚類の鱗の再生に関する研究—II.[1)]

マドジョウの再生鱗について

小 林 久 雄・河 合 匡 彦

(1959 年 12 月 12 日受理)

STUDIES ON THE REGENERATIVE SCALES OF FISHES—II. ON THE REGENERATIVE SCALES OF MUD-LOACH, *MISGURNUS FOSSILIS ANGUILLICAUDATUS* (CANTOR)

Hisao KOBAYASI and Masahiko KAWAI*

(1) It is difficult to tear off experimentally the scales of mud-loach, *Misgurnus fossilis anguillicaudatus*, because of their relatively small size. If the operation is carried out unskillfully, deformed scales would oftenly be regenerated on account of presumptive damage of the scale pockets.

(2) The early regenerative scales have a broad sculptureless focal area occupying almost all of the scale dimention, and they resemble the ordinary scales of *Cobitis taenia*.

(3) Regenerative scales observed 172 days after the operation are a little smaller in the whole shape and somewhat fewer in number of circular grooves than the ordinary ones. As time goes by, the structure of the former bears resemblance to that of the latter and consequently when the breeding of the fishes is continued, it may be supposed that these regenerated scales would completely return to the ordinary ones.

緒　　言

再生鱗が時日の経過するにしたがつて正常鱗の形態に復帰することについては未だに疑問をもつ者が多いので，われわれはマドジョウ *Misgurnus fossilis anguillicaudatus* (CANTOR) において研究を試みたので，その結果をここに報告する。ドジョウ科魚類の鱗は正常鱗でも再生鱗類似の形態を示すものが多いので真の再生鱗はどのような形態をもつかを見ようとしたのもこの研究の動機である。

材料と方法

岡崎市内の魚屋で購入した体長 9.5～11.0 cm のマドジョウを用い，魚体左側の背鰭下方の約 2 cm² の部分の鱗をメスではがした。一部個体ではピンセットではがしたが鱗が小形のためこの方法は非常に困難であつた。メスは体の後方から前方に向けて動かして，鱗をはがし，はがした後は過酸化水素で消毒し，またペニシリンを塗布して後，5*l* 入りの水槽に飼育した。手術は 120 個体に施したが飼育途中で死亡するものが多く，一定の時日を経て再生された鱗をとつて観察したが，直接観察に役立つたものは約 50 個体となつた。

結　　果

剝離後 9 日目——再生された鱗は付近の正常鱗に比べて小形で，正常鱗が巾 1 mm 以上あるのに対して，再生鱗では 0.15～0.4 mm 位しかない。溝条 (groove) の数も少なく，また彫刻を欠く中心部 (focal area) は

* 愛知学芸大学生物学教室 (Dept. Biol. Aiti Gakugei Univ.).

1) I は採集と飼育に印刷中である。

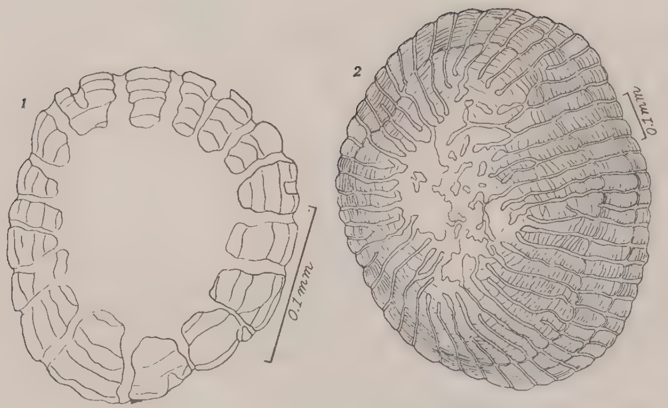


Fig. 1. Showing experimentally regenerated scales of mud-loaches. (1) 9 days after the operation, (2) 24 days after the operation.

鱗の大きさに比較して著しく大きな部分を占めている。隆起線 (ridge) も同心円状に形成されているが，その数は至つて少ない。そしてフナの再生初期のものと似て柔軟で透明である。この頃ではまだ鱗の前後の区別が見分け難いが，隆起線がわづかに多い方を後部とみなすことができる (Fig. 1 (1))。メスではがしたものはピンセットではがしたものに比べて畸型鱗が多く見られたが，これは鱗嚢の組織が破壊されたためと思われる。すなわち形の不規則のものや，中心を 2 つあるいはそれ以上もつものなどがあつた。

同じく 17 日目——マドジョウの鱗の著しい特徴のひとつである環走溝条 (circular groove) の 1 本がまず後部に形成される。隆起線はいよいよその数を増し，そして鱗の前後が明瞭になつている。副溝条(supplementary groove) も形成される。溝条の数は畸型鱗において特に多い。Table 1 は再生鱗と比較した正常鱗の実測値を示したものであるが，鱗巾と鱗長は日数の経過とともに増大し，隆起線も溝条も次第に数を増し，副溝条もできているが，これは溝条数の中に含まれている。なおこの測定の中には畸型鱗のそれも含まれていることを付記せねばならない。

Table 1. Mean values of measurements of 15 regenerative scales in comparison with the ordinary ones.

Item \ Days after operation	Regenerative scale										(Control) Ordinary scale
	9	12	24	31	43	52	82	93	103	172	172
Scale length (mm)	0.23	0.34	0.59	0.64	0.71	0.65	0.70	0.79	0.49	0.90	0.99
Scale breadth (mm)	0.34	0.42	0.75	0.75	0.81	0.86	0.83	0.87	0.52	0.86	0.98
Number of radial groove	28.8	65.6	55.7	54.0	63.6	55.2	49.5	52.2	36.5	57.4	64.4
Number of circular groove	0	0	2.3	2.5	3.1	2.8	3.3	3.1	3.2	5.0	14.9
Number of basal ridge	4.6	6.9	9.9	10.3	10.9	14.2	11.4	11.1	11.6	27.0	28.4
Number of apical ridge	6.3	11.9	24.0	31.3	36.0	36.9	47.8	43.3	31.0	62.2	84.1

43 日目——環状溝条が 3～4 本形成された (Fig. 2 (3))。

103 日目および 172 日目——環状溝条は 4～6 本形成されている。172 日目の再生鱗と，同じ魚体の正常鱗と比較して見ると，長さ，幅ともに再生鱗は正常鱗よりやゝ小形であるが，放射状溝条数はほとんど正常鱗に近く，副溝条も発達しているが，たゞ大きい違いは環状溝条の数で，正常鱗において 14～17 本あるのに対し再生鱗では 5～6 本しかもたない。無彫刻の中心部は鱗全体に対して著るしく狭くなつて，172 日目のものでは (Fig. 2 (4)) ほとんど正常鱗のものに近くなつていた。

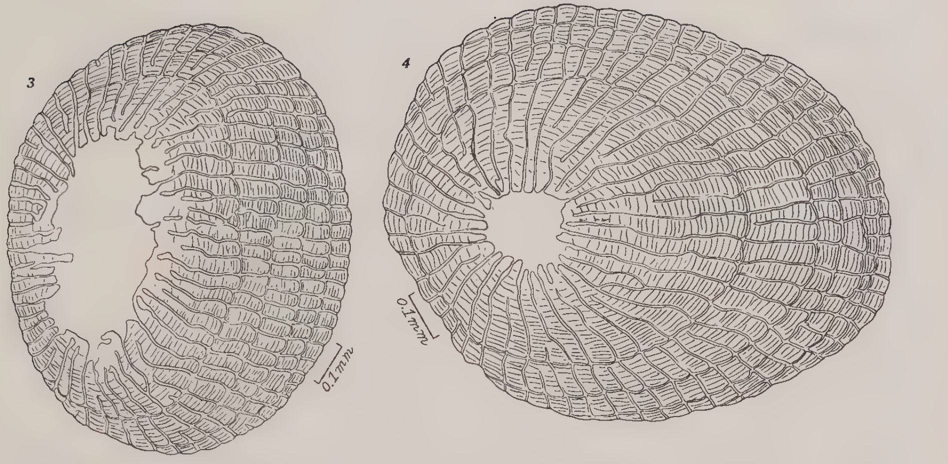


Fig. 2. Showing experimentally regenerated scales of mud-loaches. (3) 43 days after the operation, (4) 172 days after the operation.

考　　察

古くは魚類の再生鱗は何時までたつても再生した跡を残し，正常鱗と区別できるものと考えられていた。ところが鈴木 (1952) の金魚で実験的に鱗をはがして再生させた研究によると，再生の初期は正常な鱗とは判然と区別ができるが，日時の経過とともに次第に正常鱗の形態に近づき，終には全く両者は区別ができなくなる。それで魚の生活史や年令の研究には，再生鱗を使うことは不適当であるとされていた。そのことはそれで良いとしても，鈴木の研究した結果が他の魚でも事実であるとすれば，研究者が正常鱗と思つて使用した鱗が，果して真実の正常鱗か，それとも時日を経て正常鱗と区別できなくなつた再生鱗か保証できないことになる。なお第1報でわれわれはアオメエソ *Chlorophthalmus albatrossis albatrossis* の自然再生鱗を観察した結果，再生鱗と正常鱗との区別は明瞭でなく，統計的にこれを考察すると再生鱗の形態は時日の経過にしたがつて次第に正常鱗に移り変つて行くのではないかと推論した。そこでわれわれは鈴木の結果をさらに再検討し，かつわれわれの第1報の推論を確かめるためと，さらにまた初めから再生鱗類似の形態をとつている本魚の鱗の真の再生の時の形態を知るために，この実験を行つた。しかし予期したほど完全な結果は求められなかつたとはいえ，鈴木の結果を肯定し，そしてわれわれの第1報の推論も正しいとする確信がもてたので，ここに報告したわけである。

すなわち実験を終了した172日後の再生鱗は，その大きさが正常鱗よりやや小形であり，また環走溝条の数が少いことから，まだこの時期では両者の区別がつくが，中心部の面積が鱗全体の面積に比べて次第に小さくなつて正常鱗のそれに近づいており，もつと飼育を続ければ正常鱗と全く区別がつかなくなると考えても不自然ではない。再生鱗が正常鱗と一見して区別されることは何としても中心部の大きさと，この部の周辺の彫刻のみだれであるが，図 (**Fig. 2** (3)) では見てもわかる通り彫刻のみだれも無くなつている。再生後時日のまだ浅いものはこの点で明瞭に正常鱗と区別できるが，次第にその区別は時日の経過とともに不明瞭となつている。

つぎに再生初期の鱗が非常に小形であり，また中心部が著しく大きいために，シマドジョウ (*Cobitis taenia*) の鱗とよく似ていて，これと区別がつかないことは興味がある。これは未発表であるが，マドジョウの体にはじめて発生してくる鱗がやはりシマドジョウによく似ている。このことはフナ(*Carassius carassius*) の再生鱗が網目状の構造をもち，正常鱗と著しく異ることと比べるとよい対照である。マドジョウ鱗の初期発生については別文で発表する。

摘　　　要

（1）　マドジョウの鱗は小形であるため実験的の剥離が困難で，剥離がうまく行われると再生は完全にできるが，粗雑に行うと，鱗嚢の損傷のためか奇型鱗が生ずることが多い。

（2）　再生初期の鱗は，無彫刻の中心部が広く，これが鱗の面積の大部分を占め，シマドジョウの鱗とよく似ている。鱗の大きさは正常鱗に比べて著しく小さい。

（3）　再生 172 日後の鱗は正常鱗によく似ているが，これに比べて環走溝条の数が少なく，また鱗全体の大きさもやや小型である。

（4）　時日の経過に伴つて，再生鱗はその大きさも構造も次第に正常鱗の形態に近づいてくる。

（5）　実験を途中で打ちきつたが，もつと時日を永く飼育し続けたならば，全く正常鱗の形態に復帰するものと推察される。

文　　　献

1) 鈴木　亮： 金魚における再生鱗の形態の変遷．魚雑，II (4/5), pp. 192～195 (1952).

2) 斎藤 [illegible]郎・山田寿郎： 魚鱗々相の発現機構について—II. 再生より見たるフナの鱗の構造，北大農邦紀，I (4), pp. 555～560 (1953).

3) KOBAYASI, H.: Phylogenetical Consideration of Japanese Cobitid Fishes by Study of Scale Character. Bull. Aiti Gakugei Univ., IV, pp. 40～48; V, pp. 24～28 (1954～'55).

4) SAITO, S.: On the Mechanism of Appearance of the Scale Structure–III. On the Regeneration of the Scales of the Çrusian Carp, *Carassius carassius* (*L.*), when they are Reared with the Different Food. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., V (5), pp. 332～335 (1955).

5) 小林久雄： 魚類の鱗の比較形態と検索．愛学大研報，VII (特), pp. 1～104 (1958).

一曳網漁獲高から見たキダイ *Taius tumifrons* の魚群構成*

岡　正　雄

(1959 年 12 月 14 日受理)

STUDIES ON THE FORMATION OF SHOAL OF KIDAI (*TAIUS TUMIFRONS*) BY THE CATCH PER UNIT OF EFFORT

Masao OKA**

Distribution of catch per unit of effort does not fit in Poisson distribution premised the independent action of individual, because many fishes seem to form their shoals respectively.

But, it is asumed that the shoal constructed with individuals of fish will fluctuate itself and we are able to estimate that the distribution of number of shoal in some limited area will fit in Poisson distribution.

If the distribution of appearable probabilities of shoal is shown as $f_n(m)$, the probability of number of fish $W(n)$ in some limited area will be expressed as $W(n) = \sum_{m=1}^{n} \exp(-\mu)\cdot\mu^m/m!\cdot f_n(m)$ ····proviso; m denote number of shoal, n denote number of fish in limited area and μ denote average number of shoal.

Therefore, $f_n(m)$ will be able to calculate from the counted number $W(n)$ in fishing.

As the result, the distribution of $f_n(m)$ in each market size of Kidai, *Taius tumifrons*, is shown as Fig. 3 and the elementary connection of individuals in shoal of Kidai of small and middle market size is estimated as 4^r, $(r = 0, 1, 2, 3, \cdots)$ but in large size their connection is unknown.

一曳網あるいは一網漁獲高の頻度分布に関しては一定区間に存在する尾数と解釈して資源上生態上の研究に色々と利用されている。また一定区間に存在する尾数 n の頻度分布は FÜRTH[1]の研究以来，多くの人々によつて利用されて来た。しかしこの分布式は各個体が相互に関連性を持つていないことを前提としたもので次式のような Poisson 分布式へのあてはめであつた。

$$W(n) = \exp(-\mu)\cdot\nu^n/n! \qquad (1)$$

ここで μ は観測値 n の平均値である。しかし実際に観測された値に対して Poisson 分布式のあてはめを行つて見ると非常なくいちがいがあることが多い (Fig. 1参照)。Fig. 1 の点線は東支那海全域にわたつて機船底曳漁業によつて操業された一曳網毎の漁獲函数（うす函）で約 4000 曳網の頻数分布図であるが，平均漁獲函数を ν として画いた Poisson 分布曲線（鎖線）と大きなくい違いがあることが分る。

さらに Fisher はこのような分布に対して負の二項分布をあてはめているが，これも大きな喰違いが起る

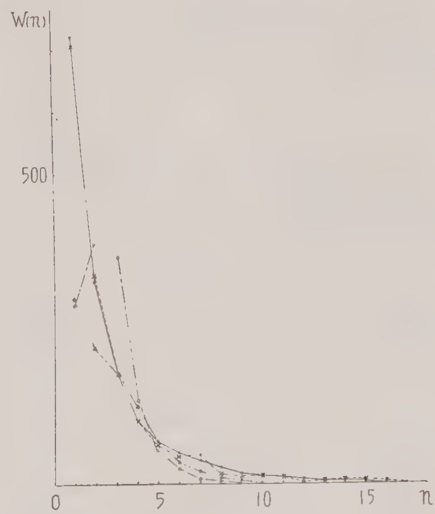


Fig. 1. Distribution of catch per unit of effort (breaking line), Poisson distribution calculated from average catch (chain line) and distribution calculated from the equation $\overline{W(n)} = ae^{-bn}+pe^{-qn}$ (real line).

* 昭和 34 年 10 月，大阪大会で発表。

** 長崎大学水産学部 (Fac. Fish. Nagasaki Univ., Nagasaki).

場合が多い。また久保[2]，伏見[3]，篠崎[4] 等による Heterogony 説があるが，実際にあてはめを行つて見てもあてはまらなかつた。

一方平田[5]，寺尾[6] は一定区間に存在する個体数の分布に対しては連合性を考慮に入れなければならないことを指摘しているが，群の構成について仮定を用いている関係上あてはめが充分でない。

したがつて各個体は相互に関連性が存在していて何尾かが1群となつて独立行動をしていると考えると彷徨変倚をするものは個体ではなく群自体であるといえる。すなわち，個体数を n とすると $n=m\cdot r$ で表わすことができ，r を群構成尾数，m を群数とすると，

$$W(n)=\exp(-\mu)\cdot\mu^{-m}/m! \qquad (2)$$

として Poisson 分布式で表わすことができる。

しかし，われわれが実際に観測し得るものは群数ではなく尾数，n である。

今1群を構成する尾数（函数）に関して 1, 2, 3, 4, ‥‥尾（函）から1群が構成される確率を各々，a, b, c, d, ‥‥ とすると m 群中に含まれる尾数の総和が n 尾である確率は

$$f_n(m)=\sum_{k_r}\frac{m!}{k_1!\cdot k_2!\cdot k_3!\cdots\cdots k_m!}\cdot a^{k_1}!\cdot b^{k_2}!\cdot c^{k_3}!\cdots\cdots m^{k_m} \qquad (3)$$

ただし　$k_1,\ k_2,\ k_3,\cdots\cdots k_m$ は

$$\sum k_r=k_1+k_2+k_3+\cdots\cdots+k_m$$
$$k_1+2k_2+3k_3+\cdots\cdots+m\,k_m=n$$

を満足するすべての値をとる。

したがつて一定区間内に m 群が存在してその尾数の総和が n 尾である確率は

$$W(n)_m=\exp(-\mu)\cdot\mu^{-m}/m!\cdot f_n(m)$$

μ は平均群数

故に n 尾（函）が一定区間内にある確率は上式において $m=1$ から $m=n$ までの総和でなければならない。

$$W(n)=\sum_{m-1}^{n}\exp(-\mu)\cdot\mu^{-m}/m!\cdot f_n(m) \qquad (4)$$

ただし (4) 式は (3) 式の条件を満足しなければならない。(4) 式の展開式は Table 1 に示す通りで，$W(n)$ の値は群数 m 毎に $e^{-\mu}\cdot\mu^m/m!$ を $f_n(m)$ の各々の値に掛け n の値に対応する縦欄の総和を求める。Table 1 はつぎのように読む。

$$\left.\begin{aligned}W(1)&=e^{-\mu}\cdot\left(\frac{\mu}{1!}\times a\right)\\ W(2)&=e^{-\mu}\cdot\left(\frac{\mu}{1!}\times b+\frac{\mu^2}{2!}\times a^2\right)\\ W(3)&=e^{-\mu}\cdot\left(\frac{\mu}{1!}\times c+\frac{\mu^2}{2!}\times 2ab+\frac{\mu^3}{3!}\times a^3\right)\\ &\vdots\qquad\qquad\vdots\end{aligned}\right\} \qquad (5)$$

したがつて a, b, c, …… の値が分れば $W(n)$ の確率分布は理論的に算出することができるが，群構成の確率は現段階においては理論的に想定することは困難である。そこで，群構成の確率分布を測定した得られた $W(n)$ の値から逆算して如何なる確率分布をするかを調べて見た。Table 1，あるいは (5) 式から $W(n)$ の値を知つて，a, b, c, …… の値を知るためには μ の値を求めねばならないが，μ の値は (2) 式において特に $m=0$ の場合

$$W(0)=\exp(-\mu)$$

Table 1. Development of the equation of probability $W(n)$.

m	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^m}{m!}$	$W(n)$ $W(n)\times N$ n	$W(1)$ 720 1	$W(2)$ 328 2	$W(3)$ 173 3	$W(4)$ 104 4	$W(5)$ 70 5	$W(6)$ 50 6	$W(7)$ 37 7	$W(8)$ 27 8	$W(9)$ 20 9	$W(10)\ldots$ $15\ldots$ $10\ldots$
1	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu}{1!}$		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j
2	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^2}{2!}$			a^2	$2ab$	$2ac$ b^2	$2ad$ $2bc$	$2ae$ $2bd$ c^2	$2af$ $2be$ $2cd$	$2ag$ $2bf$ $2ce$ d^2	$2ah$ $2bg$ $2cf$ $2de$	$2ai$ $2bh$ $2cg$ $2df$ e^2
3	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^3}{3!}$				a^3	$3a^2b$	$3a^2c$ $3ab^2$	$3a^2d$ $6abc$ b^3	$3a^2e$ $6abd$ $3ac^2$ $3b^2c$	$3a^2f$ $6abe$ $6acd$ $3b^2d$ $3c^2b$	$3a^2g$ $6abf$ $6ace$ $3ad^2$ $3b^2e$ $6bcd$ c^3	$3a^2h$ $6abg$ $6acf$ $6ade$ $3b^2f$ $6bce$ $3bd^2$ $3c^2d$
4	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^4}{4!}$					a^4	$4a^4b$	$4a^3c$ $6a^2b^2$	$4a^3d$ $12a^2bc$ $4ab^3$	$4a^3e$ $12a^2bd$ $6a^2c^2$ $12ab^2c$ b^4	$4a^3f$ $12a^2be$ $12a^2cd$ $12ab^2d$ $12ac^2b$ $4b^3c$	$4a^3g$ $12a^2bf$ $12a^2d^2$ $12ab^2e$ $24abcd$ $4ac^3$ $4b^3d$ $6c^2b^2$
5	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^5}{5!}$						a^5	$5a^4b$	$5a^4c$ $10a^3b^2$	$5a^4d$ $20a^3bc$ $10a^2b^3$	$5a^4e$ $20a^3bd$ $10a^3c^2$ 30^2b^2c $5ab^4$	$5a^4f$ $20a^3be$ $20a^3cd$ $30a^2b^2d$ $30a^2c^2b$ $20ab^3c$ b^5
6	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^6}{6!}$							a^6	$6a^5b$	$6a^5c$ $15a^4b^2$	$6a^5d$ $30a^4bc$ $20a^3b^3$	$6a^5e$ $30a^4bd$ $15a^4c^2$ $60a^3b^2c$ $15a^2b^4$
7	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^7}{7!}$								a^7	$7a^6b$	$7a^6c$ $21a^5b^2$	$7a^6d$ $42a^5bc$ $35ab$
8	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^8}{8!}$									a^8	$8a^7b$	$8a^7c$ $28a^6b^2$
9	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^9}{9!}$										a^9	$9a^8b$
10	$e^{-\mu}\cdot\frac{\mu^{10}}{10!}$											a^{10}
	⋮											⋮

n, denote catch in box. m, denote number of shoal.
$W(n)$, denote probability of catch per unit of effort. μ, denote average number of shoal.
a, b, c ···· denote each appearable probability of shoal constructed with 1, 2, 3, ···· individual of fish.

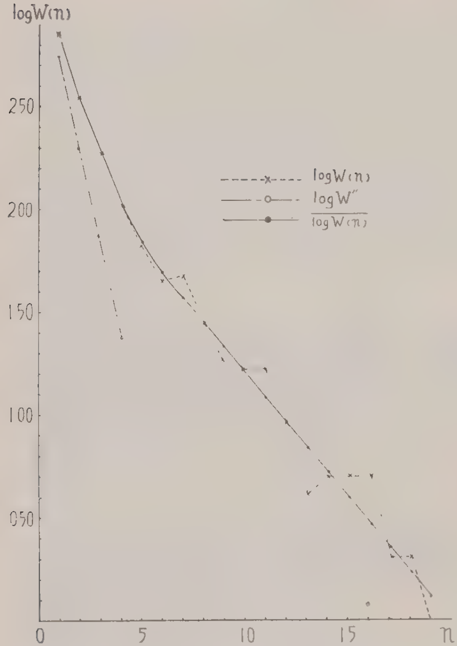


Fig. 2. Sample of fitting in the equation $W(n)=ae^{-bn}+pe^{-qn}$.

かつ $n=m\cdot r$ であるから $m=0$ であれば $n=0$ で $\underset{n=0}{W(n)}=\exp(-\mu)$ とし求めることができる。しかし $\underset{n=0}{W(n)}$ の値は実測値として求めることは困難であるから Fig. 1 の $W(n)$ の実測曲線に近似曲線として $\overline{W(n)}=ae^{-bn}+pe^{-qn}$ をあてはめる長沢の方法[7]を利用し，かつ直線性の検定を利用してあてはまりを確め係数 a, b, p, q を求めた。Fig. 2 はこのようなあてはめを行つた代表例である。このようにして求めた $W(\overline{n})$ の値を Fig. 1 に画いて見ると（実線部分）観測値（破線部分）とほぼ一致することがよく分る。そこで $\overline{W(n)}=ae^{-bn}+pe^{-qn}$ 式で $n=0$ とすると $\overline{W(0)}=a+p=e^{-\mu}$ として μ の値を求めることができる。このような方法で東支那海南方海域において昭和 30 年より 33 年までの間，汽船底曳漁業によつて操業された航海日誌による銘柄別に分類されたキダイ *Taius tumifrons* の一曳網漁獲高分布から各々 μ および $e^{-\mu}$ を求めると Table 2 の通りになる。なおキダイの銘柄別分類は漁獲毎に行われる商業上の分類であつて通常，大連子 30cm 以上)，中連子 (30cm－23cm)，小連子 (23cm－15cm) と呼称され，かつ分類されている。

Table 2. Average number of shoal in each market size of Kidai and their exponential value.

Market size	Large size	Middle size	Small size
$\mathrm{Exp}(-\mu)$	0.5234	0.4735	0.5749
μ	0.6497	0.7473	0.5535

Market size { large size…over 30 cm in body length; middle size…30～23 cm.; small size…23～15 cm.

Table 3. Appearable probability of shoal constructed with 1, 2, 3, ····individual of fish in each market size.

Number of case (x)	Market size / $P(x)$	Large size	Middle size	Small size
1	a	0.625	0.562	0.759
2	b	0.157	0.164	0.382
3	c	0.069	0.047	0.042
4	d	0.047	0.063	0.052
5	e	0.027	0.034	0.029
6	f	0.021	0.023	0.018
7	g	0.013	0.018	0.000
8	h	0.009	0.011	
·	·	·	·	·
·	·	·	·	·
·	·	·	·	·
·	·	·	·	·

このような μ および $e^{-\mu}$ 値を Table 1 に代入すると 5) の展開式から逐次 $a, b, c,$…… の値を求めることができ，Table 3 に示すような結果になつた。また魚構成尾数を x とし各々の構成尾数によつて構成される群の出現確率 ($a, b, c,$……) を $P(x)$ で表わし，その分布図を画いて見ると Fig. 3 のようになる。Fig. 3 は上より順次大連子，中連子，小連子の $P(x)$ 分布を表わしているが，大連子の $P(x)$ 分布と，中・小連子の $P(x)$ 分布とは明らかに異つている。したがつて中・小連子に関してこれが各々の分布群に分けられる複合分布群であるとすれば各々は M_r ($r=0, 1, 2, 3,$……) 尾で 1 群を構成しようとする傾向を有するそれぞれの一団であり，かつ平均値 m_r が存在しているといえる。

したがつて各分布は

$$M_r(x) = e^{-m_r} \cdot \frac{m_r{}^x}{x!} \qquad (6)$$

で表わされ, 各 M_r 団は $\sum P(x) = 1$ に対して各々 $P_{M_r}(r= 0, 1, 2, 3, \cdots\cdots)$ の割合で出現するとするならば

$$P'_{M_r}(x) = e^{-m_r} \cdot \frac{m_r{}^x}{x!} \cdot P_{M_r}$$

で $P(x) = \sum^{r} P'_{M_r}(x)$

$$P(x) = \sum^{r} e^{-m_r} \cdot \frac{m_r{}^x}{x!} \cdot P_{M_r} \qquad (7)$$

また P_{M_r} を M_r 団の出現の容易さと解釈して M_r の値が小さい小尾数構成群集団程出現し易く，かつ $r \to \infty$ に対して $P_{M_r} \to 0$ とすれば一般的に考えて P_{M_r} は M_r に対して指数的分布をなすといえる。さらに $m_r = \sum x \cdot f_{M_r}$ であり，f_{M_r} は一面において M_r 尾で1群を構成し，他面においてより大きな群が分解して M_r 群になろうとする度合と考えられ M_r 尾で構成される群の堅さを意味するといえる。

今各群を構成しようとする各個体は総て相互に等価に結び付き，かつ分離するとすれば，M_r 団の出現の難易さと，堅さは $M_r\ (r = 1, 2, 3, \cdots\cdots)$ に対して一致するか，あるいは単純な比例関係にあると考えられ P_{M_r} の r に対する指数的分布に対応して f_{M_r} も同様な指数的分布をするといえる。また M_r の値が大きい場合 (6) 式は各々正規分布型に近似して来るから m_r は M_r と一致して来る。したがつて f_{M_r} が指数分布をすれば m_r も前述の通り指数分布をし M_r は r に対して指数分布をするといえ，

$$\frac{m_{r+1}}{m_r} = \frac{M_{r+1}}{M_r} = K \qquad (8)$$

となる。

そこで田中[8] が用いた分離法で $P(x)$ を分離すると Fig. 3 中連子において例示しているように中および小連子においては1函，4函にモードを有する相隣れる分布型を分離することができた。また函数を尾数に換算した場合 m_r はいずれも大きいから (8) 式を利用すると

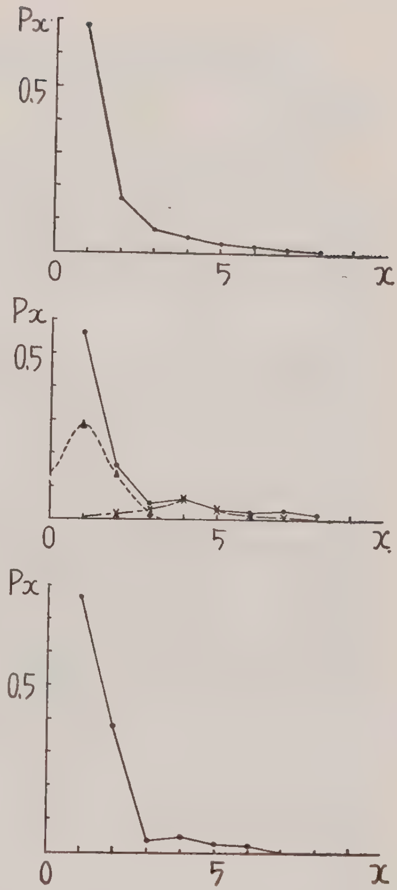


Fig. 3. Probability of appearance of shoal constructed with 1, 2, 3, ···· individual of fish in each market size.
upper fig. ····large size.
middle fig.····middle size.
lower fig. ····small size.

$$\frac{M_{r+1}}{M_r} = \frac{m_{r+1}}{m_r} = 4$$

となる。したがつて群構成尾数の特質として $M_r = 4^r$, $r = 0, 1, 2, 3, \cdots\cdots$ の結合性を持つているといえる。しかし $r = 0, 1, 2,$ の場合はこのような特性が判然としないことは前述した通りである。さらにまたこのような特性があつたとしても (6) 式および Fig. 3 の分離した分離図からも分るように結合尾数に偏倚があり，$M_r = 4^r$ のみの結合が必ずしも起つているとはいえない。しかし原則的には理想状態としてこのような結合形式に準じているといえる。他方，高年魚である大連子の $P(x)$ 分布図を見ると (Fig. 3 参照) 視覚上復合分布として分離し得る可能性が少なく単なる指数分布曲線の復合分布としてはめることしかできない。したがつて若・中年魚と考えられる小・中連子の魚群構成は単位胞群が相互に結合し合つて任意の大きさの群（連合体）を構成しているのではないかと考えられるだろう。また単位胞群の尾数は中年魚および小年魚のキダイの場合 $\alpha = 4$ であるのが α は魚種によつて異つているにちがいない。と考えられる。

要　　　約

1) 一般に漁獲量分布には Poisson 分布はあてはまらない。これは個体が独立して行動することを前提としている。

2) 魚類は多くの場合群体として行動し，群自体が彷徨変倚をする。

3) これについて群構成確率分布式を $f_n(m)$ とすれば n 尾が得られる確率は $W(n)=\sum \exp(-\mu)\cdot\mu^m/m!\cdot f_n(m)$ ただし n は尾数，m は群数，μ は平均群数を表わす。

4) この展開式は Table 1 に示す通りである。

5) $W(n)$ は漁獲統計によって得られるから 3) から群構成確率分布が得られ，Fig. 3, Table 3 の通りである。

6) 群構成確率分布式から，中・小連子は原則的に 4^r, $r=0, 1, 2, 3, \cdots\cdots$ の結合をし単位胞群が4尾であることが分つたが高年魚の大連子では分らない。

文　　　献

1) R. FÜRTH: Schwankungserscheinungen in der physik, p. 27, (1920).
2) 久保亮五: 統計力学, pp. 14～17 (1952).
3) 伏見康治: 確率論および統計論, pp. 263～266 (1952).
4) 篠崎・浦田: 個体群生態学の研究—II, pp. 13～14 (1953).
5) 平田森三: 科学, **3**, p. 274 (1933).
6) 寺尾宣三: 応用物理, **18**, pp. 112～115 (1949).
7) 長沢武雄: 計算法, pp. 193～197 (1944).
8) 田中昌一: 本誌, **20**, pp. 681～688 (1954).

若狭湾産マダイの年令と成長*

赤 崎 正 人

(1959 年 12 月 15 日受理)

GROWTH AND AGE OF THE SEA BREAM, *CHRYSOPHRYS MAJOR*, CAUGHT IN WAKASA BAY

Masato AKAZAKI**

In the present paper, growth pattern and age composition of the sea bream, *Chrysophrys major*, are estimated by scale length and fork length of the fish. During the period from April 1958 to September 1959, 1010 specimens caught in Wakasa Bay were examined in the Nishi Maizuru Fish Market, Kyoto Prefecture. They were measured in the fork length, body depth, head length, body weight and on the scales. In this case the scales were collected from the mid part of the body, namely the 5th and 6th scales in the vertical line downwards from the 13～15th lateral line scales. Scale length and each annual ring size were measured along the line from the focus to the basilateral angles. The results obtained are the following.

1. The monthly change of growth rate of marginal region (α) on scale with 1～5 annual rings (under 5 years old) of the fish were examined so as to conjecture the month when the annual ring was formed. Succesive collections of the scales throughout the year have led the writer to believe that scale annual ring is formed in the spring, from March to May (Fig. 2).

2. Average actual annual ring sizes (r_n, γ_{n+1}) of the scale are plotted against each age in accordance with Walford's growth transformation (Fig. 3). Each point is so well distributed on two lines that these meat at the 6th point.

3. Estimated annual ring size is given from the result of the Walford's growth transformation (Table 1). Fig. 4 shows the relation between fork length (L in mm) and scale length (R in mm). The relation formula is as follows:

$$L = 34.2 + 16.5R + 1.7R^2.$$

4. In Table 1, estimated fork length at the time when each annual ring of scale was just formed is obtained by application of the estimated annual ring size of each age to the relation formula. Although results obtained present slightly lower rate, they agree in general with the average actual fork length on the whole, especially whithin the first dozen years or so. Compared with the sea bream of the Inland Sea of Japan, it seemed to me that the sea bream of Wakasa Bay has inferior growth rate about one year in early stage (from 1 to about 7 years old) and two or three years in older age.

沿岸漁業にとつて相当重要な対象魚種の一つであるマダイの生態的あるいは資源的な面をつかむには，まずその成長状態を知る必要がある。マダイの成長状態や年令については，すでに多くの研究がなされているが，これらはいずれも瀬戸内海や太平洋岸産のものについてであり，それらの結果も研究者によつてかなりの差異がある。たとえば鱗紋形成期は，海老名[1,2]によると 12～3 月，川瀬[3]は 4～5 月，梶山[4]は 7 月，王[5]は 6～11 月であるという。そこで筆者は若狭湾産マダイを用い，その年令や成長状態を知ろうとして鱗の年輪形成時期を確かめ，その鱗長と尾叉体長の関係から鱗の年輪形成時の推定尾叉体長を出し，これと実測平均尾叉体長とを比較検討した。

本研究をすすめるにあたつて，長期間標本の測定と鱗の採取を快諾された京都府漁連野村保課長に心より

---

* 本報告は昭和 34 年 10 月 25 日，日本水産学会大阪大会で発表した。

** 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

厚くお礼を申し上げる。また，ご指導を賜わり本稿を校閲して下さつた松原喜代松教授ならびに有益なる助言を与えられた落合明，三谷文夫の両氏に深く感謝する。さらに，いろいろご協力下さつた岩井保，岡村収の両氏に深謝する。

材料および方法

魚体の測定および鱗の採集は，1958 年 4 月から 1959 年 9 月までの 1 年 6 カ月間に京都府漁連西舞鶴市場に集荷された 1010 個体のマダイについて行なわれた。測定は尾叉体長・頭長・体高・体重について行ない，鱗は左右を限定せずに体側中央部すなわち第 13〜15 側線鱗の下方 5〜6 枚目のもの 2〜3 枚を採集した。

鱗はよく水洗してからプレパラートに作製し，投影機にかけて拡大観察した。鱗長 (R) は鱗の中心 focus から被覆部にある 2 個の基側角 basilateral angles[6] までを，同じく輪紋長 (r_n) はこの部の各輪紋までの長さを測定し，その平均値をもつてそれぞれの鱗長および輪紋長とした (Fig. 1)。ここで年輪と認めるのは鱗の上に現われる細い透明帯の，写真では白い環状線となつている部分であつて，この部分では ridges に乱れが生じているので輪紋と認定した。

輪紋の明りよう度

若狭湾産マダイの輪紋は多くの魚のうちでは明りような方であつて，若年魚ではほとんど正しく読めるが高年魚では相当困難を感ずる。さらにわずかではあるが 5〜6 年魚以上に，まれにはやや低年魚に偽年輪が現われる。この偽年輪はふつうは鱗の基部全面に現われることなく，中心と基側角を結ぶ線上で年輪と年輪の中間にかすかに現われることが多いので，年輪と混同することはあまりない。これは産卵記号と見られないこともないが，その形成時期や成因がはつきり確かめられないので，一応ここでは夏鱗とみなして年輪の読みから除外した。なお再生鱗は老年になるにしたがつて多くなり，特に雄において著しかつた。



Fig. 1. Scale of the female specimen of the sea bream, *Chrysophrys major*, collected on June 6, 1958, 37.2 mm. in fork length, with 6 annual rings. Scale length and annual ring size were measured along the line from the focus of the scale to the basilateral angles. Scale bar indicates 2 mm.

結　　果

1. 輪紋形成時期の推定

輪紋によつて年令を正しく推定するためには，その輪紋が一定の時期に規則正しく形成されることが必要である。そこで輪紋形成の周期性をみるために，鱗の辺端成長率 $\alpha=(R-r_n)/(r_n-r_{n-1})$[7] を計算した。4 年魚以下では輪紋が相当に明りようで，しかも産卵その他の生理的条件によつて影響されることも少ないと思われるので，これらの群について α の値を求めた。ただし 3 月と 6 月は標本が少ないので 5 年魚も含めた。α の月別ひん度分布の周年変化を，1958 年 4 月から1959年 3 月までの満 1 カ年にわたつて得た資料によつて図示したものが Fig. 2 である。これから判断すると，α の値は 4 月では主に 0.0〜0.1 にあつて輪紋のはつきり認められる個体と 0.9 の附近にあつて輪紋の認められない個体とがあり，5 月から 12 月まで

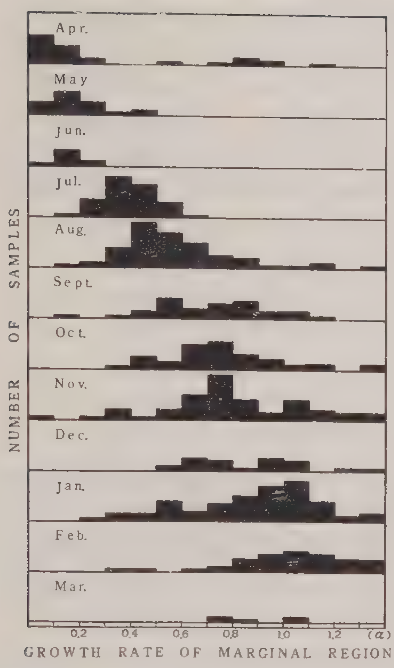


Fig. 2. Monthly frequency distribution of growth rate of marginal region (α) on scale of the sea bream, *Chrysophrys major*, during one year from April 1958 to March 1959. $\alpha=(R-r_n)/(r_n-r_{n-1})$: R, scale size measured from focus to basilateral. r_n, annual ring size measured as by the same method in R.

は α の値は 0.1 から 0.9 まで月とともに順次移動しているが，1月から3月までは α は 1.0 附近に止つている。3月は資料が少ないが恐らく一部の輪紋は形成されつつあると思われる。以上のことからこの輪紋は年一回春すなわち，3~5月に形成されるといえよう。

2. 鱗長およびそれと尾叉体長との関係

推定輪紋長を求めるため，まず測定された 1010 個体の鱗の各輪径を計り，さらにそれを年令毎に平均して各実測平均輪紋長とし，その定差図[8] を描いたものが Fig. 3 である。

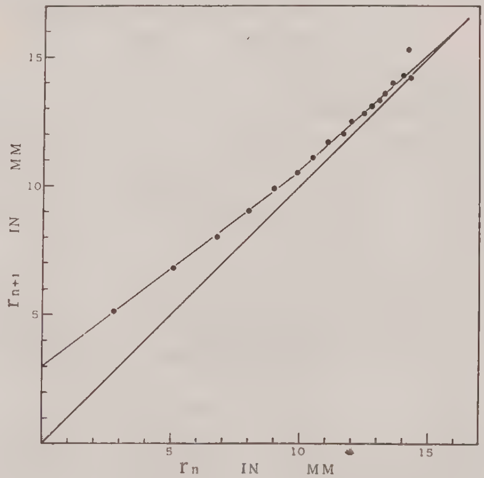


Fig. 3. Walford's growth transformation of annual ring size on scale, based upon the data in Table 1. Ring sizes r_1, r_2, ····, r_n are plotted along the x-axis against ring sizes r_2, r_3, ····, r_{n+1} along the y-axis, respectively.

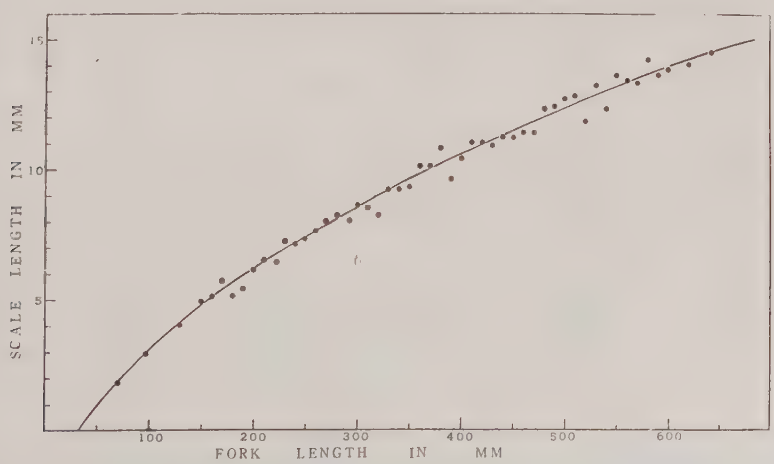


Fig. 4. Relation between average fork length and scale length in mm. of the sea bream, *Chrysophrys major*.

各測定値は資料の少なかつたおわりの第 17・18 点を除いて第 6 点 (r_6, r_7) で合する 2 つの直線にほぼ乗つている。第 1 点と第 6 点を通る直線の勾配，すなわち年間成長量の比は 0.85 となり，他の直線のそれは 0.95 となつている。ここで推定輪紋長というのは 2 直線上に各測定値が正しく乗るよう修正された値である。

つぎに各輪紋が形成された時の魚体の大きさを推定するために，尾叉体長 10 mm 毎に 5 個体ずつの標本を取り，鱗長と尾叉体長との平均値をプロットしたのが Fig. 4 である。この両者の関係は幾分複雑であるが，つぎの 2 次函数で割合よく表わされる。

$$L = 34.2 + 16.5R + 1.7R^2.$$

ただし

L: 尾叉体長 (mm)；　R: 鱗長 (mm)

34.2 は鱗初生時の尾叉体長

3. 各輪紋形成時の尾叉体長

前記の鱗長と尾叉体長の関係式の R に，推定輪紋長 (r_n) を代入すると，各輪紋の形成された時の推定尾叉体長 (l_n) が得られる。この推定尾叉体長と各年令における実測平均尾叉体長を比較したものが Table 1 である。それによると，4 年頃までは幾分推定値の方が実測値より小さいが，6 年では前者は 363 mm，後者は360 mm，10 年ではともに 484 mm とこの間はほとんど一致している。さらに 15 年まではわずかの差がある程度で，ほぼ似た値を示しているが，それ以上では個体数の少ないせいもあつてやや差異が大きい。

Table 1. Estimated and average values (from April 1958 to September 1959) of scale length and fork length of the sea bream of each age.

r_n or l_n / Year	Scale length (mm)			Fork length (mm)		
	Estimated scale length	Average annual ring size	Number of samples	Estimated fork length	Average fork length	Number of samples
1	3.0	2.8	978	99	111	31
2	5.2	5.1	898	165	189	60
3	6.8	6.8	582	225	239	325
4	8.0	8.0	503	275	292	81
5	9.0	9.0	449	320	331	38
6	9.9	9.9	402	363	366	58
7	10.5	10.5	344	395	375	66
8	11.1	11.1	294	428	430	50
9	11.7	11.7	252	462	460	40
10	12.1	12.0	213	484	484	41
11	12.5	12.5	160	508	498	52
12	12.8	12.8	116	525	537	45
13	13.1	13.1	86	542	551	30
14	13.4	13.3	53	560	552	33
15	13.7	13.6	38	578	556	15
16	14.0	14.0	23	598	556	15
17	14.2	14.3	17	612	579	6
18	14.4	14.2	7	625	635	10
19	14.6	15.3	4	640	602	3
20				662	676	4

論　　議

輪紋形成期の検定の際問題となるのは，若年魚における輪紋の年間成長量の比は 0.85 であるが，これより大きい個体が相当認められることである。これは輪紋が縁辺附近に形成された頃，または形成された直後

には見分けにくいが，この輪紋読取上の誤認よりもむしろ成長のよい若年魚では事実このような過大成長が起つていると考えられる。しかし輪紋が形成されると幾分収縮して一定の成長量にかえつているようである。

鱗の年輪形成期が 3, 4, 5 月であるとの結論は川瀬[3] の結果と大体一致しているが，このことはさらに水温の点からも説明される。梶山[4] によるとタイは水温 14.5°C で食欲が著しく減退し，11.5°C で食欲中止し冬眠するという。若狭湾産マダイの主生息場附近の水温は 50～100 m で 2～3 月には 10°C 近い最低水温となり，4～5 月には 11°～15°C の食欲減退の範囲の温度となるが，その頃の沿岸は 15°C 以上となる*。そしてそれ以後，水温は上昇してゆく。それ故，最低水温の時が輪紋の休止帯（透明帯）となるが，実際は若干おくれて輪紋の形成が始まることが推定され得る。高年魚では輪紋形成の時期が若干おくれることがしばしば観察される。この理由は実際におそくなることもあろうが，各輪紋の幅がせまいためにその読みが困難になることも考えられる。

つぎに輪紋長の定差図において，第 6 点で屈折することの意味についてはいろいろのことが考えられる。しかしその中でも，この屈折が成長の変化に関与する何らかの外因，内因によつて誘発される生理的現象，たとえば水温の変化とか，産卵や餌料の多少などに起因する現象に基づくことは想像にかたくない。若狭湾産マダイの主産卵群に加わる年令は 6 年前後と考えられるので，そのことも一部関与していると考えられる。第 6 点で屈折はするが，各測定値は 2 つの直線によく乗ることから，一応この鱗長はそれぞれ一定の法則の下に成長するものと思われる。

鱗長と尾叉体長の関係は考えた程簡単でなく，直線や指数曲線にはよく乗らずに抛物線で割合よく代表される。しかし，これも尾叉体長 70～640 mm 間の関係に過ぎない。関係式の 34.2 mm の鱗初生時尾叉体長は少し高い値であるが，おそらく実際は 10～20 mm 位の頃から下に凸の曲線をたどつて成長するものではなかろうか。また年令別の尾叉体長をプロットした成長曲線を描いてみると，高年魚での変動が大きいだけで，全体としての成長状態は Fig. 4 の場合とほとんど同じである。

若狭湾産マダイでは尾叉体長に 0.87 を乗ずると体長が得られる。今これを梶山[4] の調査した瀬戸内海産マダイの成長と比較してみる。若狭湾産マダイの体長は 4 月から翌年 3 月までの平均で，2 年 16.4 cm，5 年 28.9 cm，10 年 42.1 cm，20 年 58.8 cm である。瀬戸内海産のものは各年末の体長で，2 年 19.2 cm，5 年 34.5 cm，10 年 49.2 cm，20 年 64.8 cm である。両者の体長は測定値の基準が異なるのではつきりした比較はできないが，瀬戸内海産のマダイは若狭湾のものより始めの 7 年前後までは 1 年位，それより高年魚では 2～3 年位成長がよいと考えられる。

なお若狭湾産マダイの極限体長を，推定尾叉体長の定差図から求めると約 850 mm となり，その推定最大年令は 40 年前後となつた。

要　　約

若狭湾産マダイの鱗長と尾叉体長とからその年令と成長を推定した。調査期間は 1958 年 4 月から 1959 年 9 月までの 1 年 6 カ月で調査尾数は 1010 尾である。鱗は魚の体側中央部，すなわち側線第 13～15 枚目の下方 5～6 枚目の部分から採集された。また鱗長と各輪紋長は鱗の中心から基側角に至る直線に沿つて測つた。その結果はつぎのようである。

1. 輪紋は年 1 回，春（3～5 月）に形成されると思われる。
2. 輪紋長はその定差図において第 6 点で合する 2 つの直線に割合よく乗る。
3. 鱗長（R, mm）と尾叉体長（L, mm）との関係はつぎの 2 次方程式で表わされる。

$$L = 34.2 + 16.5R + 1.7R^2.$$

　　ただし　34.2 は鱗初生時の尾叉体長

4. 若狭湾産マダイの成長を瀬戸内海産のものと比較すると，前者は若年魚では 1 年位，高年魚では 2～3

* これらの水温値は 1958 年度における舞鶴海洋気象台の観測値である。

年位成長が悪いと考えられる。

文　　献

1) 海老名謙一: 本誌, **4** (6), pp. 411～414 (1936).
2) ――――: ――, **8** (6), pp. 295～297 (1940).
3) 川瀬　実: 内水研究報, (4), pp. 101～106 (1953).
4) 梶山英一: 鯛, 143 pp. (1937).
5) 王 貽 観: 本誌, **6** (4), pp. 175～178 (1937).
6) 小林久雄: 愛知学大研報, **7** (特), pp. 4～10 (1958).
7) 三谷文夫・佐藤哲哉: 本誌, **24** (10), pp. 803～808 (1959).
8) Walford, L. A.: *Biol. Bull.*, **90** (2), pp. 141～147 (1946).

TRANSLATION IN REPRINT FILE

シイラの卵発生と仔魚期

水戸 敏

(1959 年 12 月 15 日受理)

EGG DEVELOPMENT AND HATCHED LARVAE OF THE COMMON DOLPHIN-FISH, *CORYPHAENA HIPPURUS* LINNÉ

Satoshi MITO*

Concerning post-larvae and juvenile of the common dolphin-fish, *Coryphaena hippurus*, there are reports by various authors, however, the egg development and succeeding pre-larval stage, so far, seem to remain undescribed.

The ovarian egg of this fish is buoyant, colorless, spherical in shape, measuring 1.2～1.6 mm in diameter, with a single light yellow oil globule measuring 0.3～0.4 mm in diameter.

The yolk is coarsely segmented, but after being preserved, these segmentations became indistinct.

According to the occurrence of eggs and larvae in the sea, and the examination of the gonad of this fish, the spawning season around Kyushu seems to extend from late May to late August (Table 1). The hatching took place in about two days at the water temperature 24～26°C.

During the course of egg development, many melanophores and xanthophores appeared on the embryonal body, yolk and oil globule (Fig. 1, a–c).

The just hatched larva was 3.95 mm in total length, with the oil globule situated at the posterior part of the yolk, and the anus opened somewhat posteriorly to the middle of the body. The myotome number was 17 + 15 = 32 (the vertebral number of this fish being 31).

Melanophores and xanthophores were scattered nearly all over the body, yolk and oil globule, but on the marginal fin there were observed only the xanthophores.

Soon after hatching, the chromatophores became larger and approached to each other, and the xanthophores on the marginal fin shifted to its margin.

In 4 days after hatching, the yolk and oil globule were entirely consumed and the larva attained 5.70 mm. The xanthophores of the marginal fin became faint. The myotome number and the position of the anus remained unchanged (Fig. 1, e).

シイラ *Coryphaena hippurus* LINNÉ は世界各地の暖海の表層に分布し，全長 2m 近くに達する魚である。本種の稚魚については LÜTKEN[1] をはじめ多数の報告があり，わが国からは内田[2]，中村[3]，千田[4]，黒田[5] および内田・道津[6] 等によつて報告されている。しかし，産卵についてはなお不明な点が多く，卵内発生および発育初期の仔魚については知られていない。

筆者は九州近海に出現する浮游性魚卵中に，種々の点から考えて，本種と思われるものを得ているので報告する。

はじめに本研究に当り終始御指導下さり，かつ本稿の校閲をしていただいた内田恵太郎教授，資料の蒐集その他で御世話になつた南海区水産研究所矢部博遠洋資源部長，横田滝雄沿岸資源部長および長崎県五島下之浦漁協前組合長藤原弁止の諸氏に深謝する。

* 九州大学農学部水産学教室 (Fish. Lab. Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka City). 本研究の一部は農林漁業試験研究費補助金（内田恵太郎）によつた。

産卵期，卵および卵内発生

産卵期　内田は南日本では5月末から6月下旬にわたると述べ，内田・道津は稚魚の出現傾向から山陰以西の暖流域では春〜夏に産卵が行われ，南にゆくほど長期にわたろうと想像している。筆者が採集し得た天然浮性卵の出現期は6月末〜8月末であつた (Table 1)。

Table 1. Note on the floating eggs of *C. hippurus.*

Date of collection	Locality	Surface water temperature °C	Number of eggs	Diameter of egg mm	Diameter of oil globule mm
June 27′53	Off shore of Miyazaki Pref.	22.0	8	1.28〜1.62	0.32〜0.35
August 27″	〃	29.6	5	1.32〜1.37	0.28〜0.31
July 1′54	Near Tamanoura Cho, Goto Islands	21.0	3	1.55〜1.58	0.31〜0.34

卵　1955 年8月 19 日に，宮崎県都井岬沖で曳縄により漁獲された全長 112 cm の成魚の熟卵は，径 1.30〜1.64 mm，径 0.3〜0.4 mm の油球1個を持つ球形分離浮性卵であつた（矢部氏よりいただく。70% アルコール中に1年保存)。卵黄の亀裂の有無は固定保存した標本のためはつきりしなかつたが，泡沫構造らしいものが認められた。また 1957 年6月に屋久島近海で漁獲された成魚の熟卵は，漁獲後かなりの時間を経過し，個々の卵は変形していたが，卵黄に亀裂が認められた。

天然浮性卵は径 1.28〜1.62 mm，油球は1個，淡黄色，径 0.28〜0.35 mm，卵黄は全面に亀裂があつた。

卵内発生 (Fig. 1, a〜c)　他の浮性魚卵に比べて特に変つた点はない。産卵期の水温 (21〜29°C) では放卵後 2〜2.5 日で孵化するものと思われる。

採集された卵のうちで発生の最も初期にあつたものは，採集後5時間 20 分に7筋肉節期にあつた (a)。この卵は 24〜26°C の水温では3時間後に眼胞が分化し (b)，14 時間後には胚体は卵黄の約 3/4 を取巻き，胚体と油球上とには黒および黄色素胞，卵黄上には黒色素胞だけが現われていた (c)。この状態から 9.5〜11.5 時間後（採集後 29〜31 時間）に孵化した。

孵化近くになると頭部を取巻く卵黄上に孵化酵素腺が環状に現われ，黄色素胞も卵黄全表面に分布した。孵出孔の形[7] は類円孔が多く，時に蝶番蓋型や一部の乱れた類円孔が見られた。

孵　化　仔　魚 (Fig. 1, d〜g)

孵化直後の仔魚 (d)　全長 3.95 mm，油球は卵黄の後下方にあり，肛門は卵黄から離れ，第 17 筋肉節下，体の中央よりやや後ろに開く。小さい星状または樹枝状黒色素胞が尾端を除く体側全面，卵黄および油球上に散在し，点状黄色素胞は膜鰭を含む体表全域に密布し，卵黄および油球上にも見られた。筋肉節数は 17 + 15 = 32。

孵化後 5〜7 時間の仔魚 (e)　全長 4.30 mm，胸鰭が現われはじめた。体側の黒色素胞は数が減り，大きさを増した。膜鰭上の黄色素胞は集まつて帯状になり，縁辺に並んだ。

孵化後1日の仔魚 (f)　全長 5.82 mm，体側の黄色素胞が発達し，尾端を除く全側面を掩つた。卵黄および油球上の黄色素胞は減少した。膜鰭縁辺の黄色素胞は背腹とも体の前方から 1/3〜3/4 の間に分布し，尾部中央附近では体の背腹面と細く連つていた。体側の黒色素胞は再び数を増し，尾部背面では一部膜鰭内へ拡がつた。腸管下屈部に 1〜2 個の黒色素胞が現われた。筋肉節数や肛門の位置は変らない。

孵化後4日の仔魚 (g)　全長 5.70 mm，卵黄および油球を吸収し尽し，眼は黒く，口は大きく開いた。胸鰭も大きい。膜鰭上の黄色素胞は減少し，背膜鰭では中央部の縁辺に断続して並ぶ数個と尾部の体背面から鰭内へ拡がる3個だけになつた。腹膜鰭では肛門より前にはなく，尾部の体腹面から鰭内へ拡がる2個（背面のものと相対する）が認められるに過ぎなかつた。体側の色素胞には変化がなく，消化管上には樹枝状

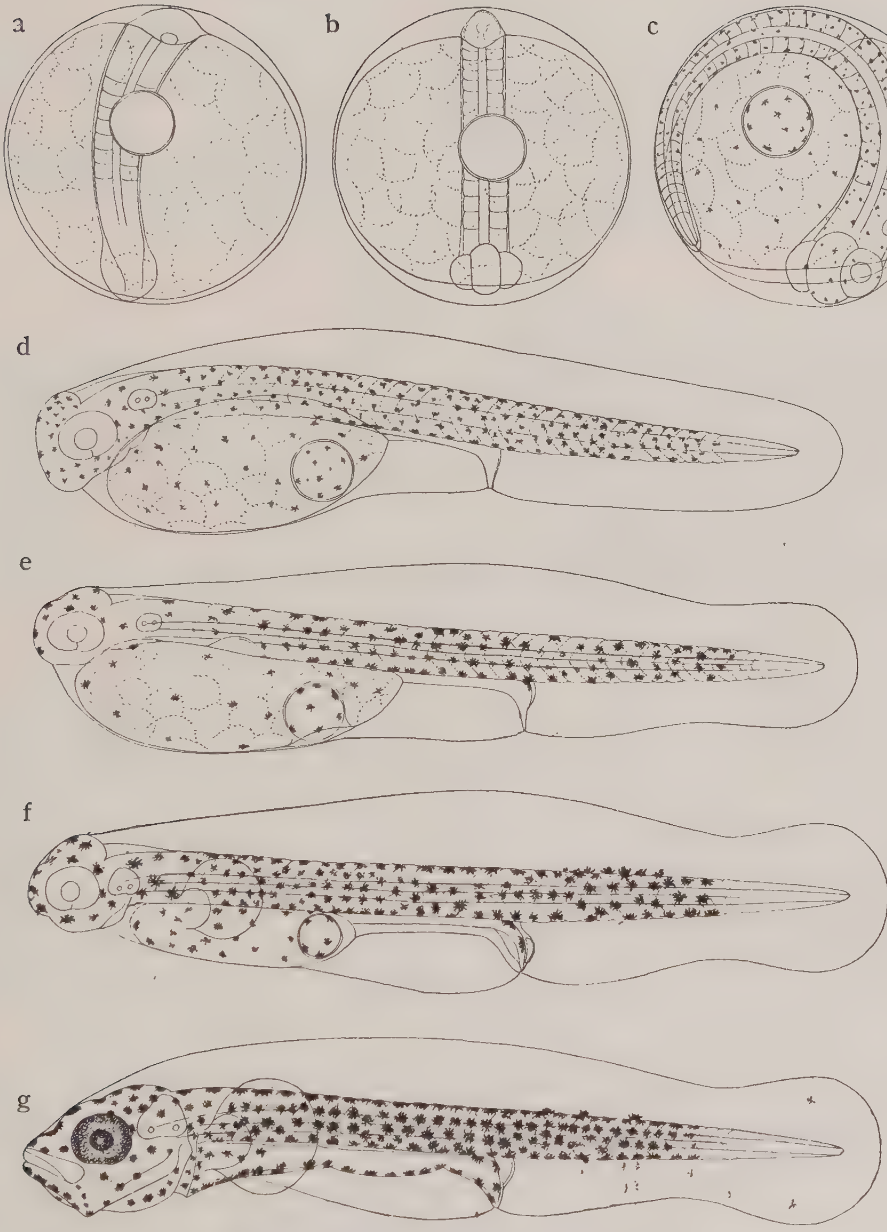


Fig. 1. Developing eggs and hatched larvae.

a. 7-myotome stage, $5^h 20^m$ after collection. b. $8^h 20^m$. c. Developed embryo with melanophores and xanthophores, $19^h 20^m$, about 10^h hefore hatching. d. Larva just hatched, 3.95 mm in total length. e. Larva $5\sim 7^h$ after hatching, 4.30 mm in total length. f. Larva 1 day old, 5.82 mm in total length. g. Larva 4 days old, 5.70 mm in total length. (24～26°C)

(Drawm from alive specimens, xanthophores omitted.)

の黒色素胞が現われ，主として下面に並んだ。尾部後方の膜鰭内にも少数の黒色素胞が現われた。肛門の位置や筋肉節数に変化はなかつた。

上述した卵および孵化仔魚をシイラと考えたのは，はじめて述べたように浮性卵の性質が熟卵に似ていること，卵黄を吸収し尽した仔魚は千田が報告したシイラ稚魚（4.3 mm）に酷似すること，シイラの脊椎骨数が 31 個（エビスシイラは 33 個，いずれも内田[8]による）であること等によつた。

なお，この卵および孵化仔魚は，筋肉節数以外の点では，SANZO[9]が報告したメカジキ *Xiphias gladius* L., SPARTA[10] が記載したフウライカジキ属の1種 *Tetrapturus belone* Raf. の卵および孵化仔魚に良く似ている。

文　献

1) LÜTKEN, C.: *Spolia Atlantica*, 483 (1880).
2) 内田恵太郎: 水学報., **4** (3), 178 (1924).
3) 中村秀也: 養殖会誌, **6** (7, 8), 133 (1936).
4) 千田哲資: 長崎水試資料, **59**, 49 (1954).
5) 黒田長礼: 動雑., **65** (2), 49 (1956).
6) 内田恵太郎・道津喜衛: 対馬暖流開発調査報告書, 第2輯, 43 (1958).
7) 内田恵太郎: 科学, **8** (1), 3 (1938).
8) ――――: 本誌, **4** (4), 224 (1935).
9) SANZO, L.: *Faune ichthyologique*, No. 7 (1931).
10) SPARTA, A.: *Estratto Bollett. Pisca Piscicol. Idrobiol.*, **29** (8), 3 (1953).

キンチャクダイの卵発生と仔魚期

藤田矢郎・水戸　敏

(1959 年 12 月 15 日受理)

EGG DEVELOPMENT AND HATCHED LARVAE OF A CHAETODONTID FISH, *CHAETODONTOPLUS SEPTENTRIONALIS* (TEMMINCK et SCHLEGEL)

Shiro FUJITA and Satoshi MITO*

Chaetodontoplus septentrionalis (TEMMINCK et SCHLEGEL) is a common chaetodontid fish, distributed from the middle to southern Japan, Formosa and China.

The spawning season seems to extend from July to early September in the western part of Yamaguchi Prefecture.

On August 12 and 25, 1959 the authors carried out the artificial insemination of this fish and observed the egg development and hatched larvae at Tsunoshima, Hohoku Cho, Yamaguchi Prefecture.

The egg is colorless and buoyant, spherical in shape measuring 0.82~0.88 mm in diameter with a single oil globule measuring 0.15~0.20 mm. The yolk is roughly segmented near its animal pole.

Hatching took place in 16 hours at the water temperature of 26.8~28.0°C and in 22 hours and 40 minutes at 24~26°C.

Newly hatched larvae (including the one of Fig. 1, i) were 1.9~2.0 mm in total length, with the oil globule situated at the posterior part of the elongated oval-shaped yolk sac. The myotome number was $12+15=27$ (vertebral number of this fish being $10+14=24$). The melanophores were scattered all over the body excepting the end part of the tail and on the surface of the oil globule. The larvae were free from the xanthophores.

In 22 hours, the eyes became slightly pigmented. The xantophores appeared on the oil globule and on the yolk around it, none on the body. The melanophores on the oil globule shifted to the anterior part of the yolk. The number of myotomes was $10+15=25$.

In 48 hours, the yolk and oil globule were almost consumed and the larva attained 2.6 mm in total length. The mouth was formed, and pectoral fins well developed. The melanophores became larger and covered the body excepting the tail end.

In 68 hours, the yolk were entirely consumed and the larva died.

キンチャクダイ** *Chaetodontoplus septentrionalis* (TEMMINCK et SCHLEGEL) はチョウチョウウオ科 Chaetodontidae に属し，本邦中部以南から台湾，支那海に分布する温熱帯性の沿岸魚である。

チョウチョウウオ科魚類の産卵については，サザナミヤッコ属の1種 *Pomacanthus arcuatus* について STRAUGHAN[1] の報告があるが，卵および孵化仔魚の性質については触れていない。

また，本科魚類のうちには幼期に特異な形をした Tholichthys stage を経過するものがあり，わが国産のものについては渡部[2),3)] および岡田・渡部[4)] の報告がある。

筆者らは 1959 年（昭和 34 年）夏に，山口県豊浦郡豊北町角島（山口県北西部，日本海側）において本種の人工授精を行い，卵内発生と孵化仔魚とを観察することができたので報告する。

* 九州大学農学部水産学教室 (Fish. Lab. Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka City). 本研究の一部は農林漁業試験研究費補助金（内田恵太郎）によつた。

** 本種の方言：　イシメンボウ（山口県，角島），キョウゲンバカマ（下関市，安岡）。

産卵期，卵および卵内発生

産卵期　角島附近における本種の産卵期は，成魚の生殖巣の状態から見て 7～9 月上旬と考えられる。産卵期においては，卵巣の発達した雌魚の腹部は著しく膨出するので，雌雄の識別は容易である。

卵　完熟卵は油球 1 個を有する無色透明の球形分離浮性卵で，卵径 0.82～0.88 mm，油球径 0.15～0.20 mm であつた。卵膜には特殊な構造はないが，卵黄には動物極の周辺に粗な亀裂がある。卵膜腔は狭い。

人工授精は 8 月 12 日と 8 月 25 日に，底刺網の漁獲を用い，漁獲現場で乾導法により行つた。親魚の全長は ♀ 156 mm，♂ 152 mm（8 月 12 日），♀ 165 mm，♂ 140 mm（8 月 25 日）であつた。両回とも飼育水温の差による孵化所要時間には相違があつたが，卵内発生の諸経過はほぼ同一であつた。

卵内発生 (Fig. 1, a～h)　8 月 25 日午後 11 時 10 分に人工授精を行い，26.8～28.0°C で飼育した場合について述べる。

受精後 2 時間 20 分に最初の観察を行つたが，卵はすでに Morula 期に達していた (a)。受精直後からこの間までは舟上で経過したため観察を欠いている。4 時間 50 分後には胚皮は卵黄の 1/3 を掩い，胚体原基が分化し (c)，8 時間後には胚孔を閉じかけた (d)。8 時間 50 分後には筋肉節 6 個を生じ，眼球および KUPFFER 氏胞が認められ，油球は胚体の反対側に位置する (e)。12 時間 30 分後には筋肉節 12 個を生じ，頭部から尾部に至る胚体上に黒色素胞が現われている (f)。13 時間 30 分後にはレンズ，耳嚢および心臓が分化し，筋肉節は 23 個に増加した。胚体上の黒色素胞は数を増し，油球上にも黒色素胞が現われた (g, h)。16 時間後に孵化が始まり，その後 1 時間以内にほとんどの卵が孵化した。孵化直前には胚体は卵内のほぼ 4/5 を廻り，筋肉節 26～27 個が数えられた。卵内発生中に黒以外の色素胞は出現しない。卵は孵化するまで容器の表層または中層に浮游していた。24～26°C の水温では受精後 22 時間 40 分に最初の孵化が見られた。

孵化仔魚 (Fig. 1, i～l)　孵化直後の仔魚 (i) は全長 1.9～2.0 mm，卵黄は長卵形で粗な亀裂があり，長径は 1.0～1.1 mm，油球は卵黄の後端または僅にその前下方に位置し，径 0.2 mm であつた。筋肉節数は 12 + 15 = 27（本種の脊椎骨数は 10 + 14 = 24），肛門は体の中央よりやや後に開く。樹枝状黒色素胞が頭頂から尾部後方までの体の背腹面および正中線に沿つてほぼ 1 列に並び，油球の背面上にも見られる。黄色素胞は全くない。

孵化後 12 時間の仔魚 (j)　全長 2.32 mm，胸鰭が現われ，油球上の黒色素胞が前方へ移る。肛門の位置は体の中央よりやや前方，筋肉節数は 12 + 13 = 25。

孵化後 22 時間の仔魚 (k)　全長 2.25～2.45 mm，卵黄長径 0.35 mm，油球径 0.15 mm，筋肉節数 10 + 15 = 25。眼に黒色素胞が現われ始め，体側のものは大きさを増すが位置はほとんど変らない。油球上の黒色素胞は卵黄の前方へ移り，油球およびその周辺の卵黄上に黄色素胞が現われる。腸管背縁および腹縁に 1～2 個の黒色素胞がある個体もある。

孵化後 48 時間の仔魚 (l)　全長 2.60 mm，卵黄をほとんど吸収し（長径 0.15 mm），口が開き，鰓弓の原基が認められる。胸鰭は大きく発達し，眼も黒くなる。体側の黒色素胞はさらに大きくなり，胸鰭基底部から尾部後方近くまでの体側一面を掩い，肉眼でもこの部分は黒く見える。卵黄上の黄色素胞は褪色し，認められなくなつた。

孵化後 68 時間には卵黄を吸収し尽し，死んでいた。

本研究に当り，終始御指導を賜わり，かつ本稿の御校閲を仰いだ内田恵太郎教授並びに採集に協力された角島漁協の組合員諸氏に深謝の意を表する。

文　　献

1) STRAUGHAN, R. P. L.: *Aquarium J.*, **30** (9), 338 (1959).
2) 渡部正雄: 資源研短報., No. 11～19, (1946).
3) ————: 資源研彙報., No. 10, 25 (1946).
4) 岡田彌一郎・渡部正雄: 動雑., **57** (3), 29 (1947).

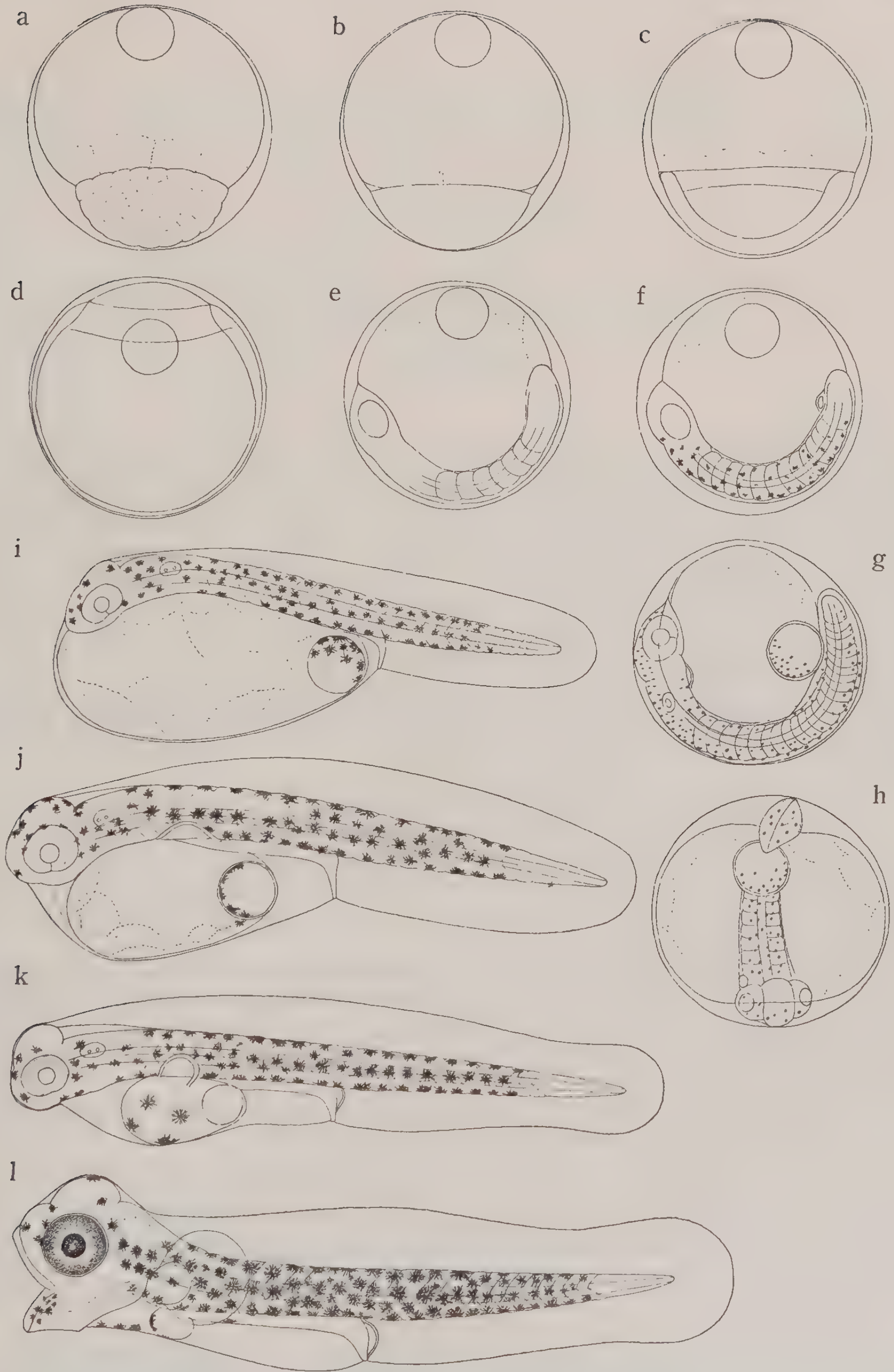


Fig. 1. Develeping eggs and hatched larvae.

a. Morula stage, $2^h 20^m$ after insemination. b. Blastula stage, 3^h. c. $4^h 50^m$. d. Shortly before the closure of the blastopore, 8^h. e. 6-myotome stage, $8^h 50^m$. f. 12-myotome stage, appearance of melanophores, $12^h 30^m$. g, h. 23-myotome stage, 19^h. i. Larva just hatched, 1.90 mm in total length. j. Larva 12^h after, 2.32 mm in total length. k. Larva 22^h after, 2.45 mm in total length. l. Larva 48^h after, 2.60 mm in total length. (26.8∼28.0°C)

鹹水養魚場の水の交流について

橘　高　二　郎

(1959 年 12 月 16 日受理)

ON THE SIGNIFICANCE OF THE CHANGE OF POND WATER IN CULTIVATION OF MARINE FISH.

Jiro KITTAKA*

Recently, cultivation of Hamachi (the young of *Seriola quinqueradiata*) has been carried on in various districts along the coasts of the Seto Inland Sea. The culture ponds now in use may be divided broadly into two types. The pond of the first type ("channel" type) is constructed by erecting stone dams at both ends of a narrow channel between two islands. Ponds of Ageshima and Kiheijima fish farms are of this type. The pond of the other type ("bay" type) is made by stretching wire-netting or fishing net at the mouth of a small bay. Representatives of the ponds of this type are found at Fukura and Uto fish farms. Sea water flows into or from the ponds, more or less freely, by tide and tidal current, passing through sluices of the dam in the former or through net meshes in the latter.

In the present study, investigation was made on some physical and chemical characters and change or circulation of the sea water of several Hamachi-ponds of these types, with special reference to the possible relation between change of pond water and carrying capacity of the pond.

The results obtained may be summarized as follows:

1) In the ponds of the channel type, sea water continually flowed into them through sluices of either of the opposite dams, except about an hour or two at low water. In the ponds of the bay type, on the contrary, the inflow of sea water discontinued from high water to low one. Consequently, the vertical gradient of the environmental factors was less remarkable in the latter than in the former.

2) It was established both theoretically and observationally that the oxygen concentration of the pond water was determined by three principal agents, viz., change or circulation of pond water, absorption of atomospheric oxygen and respiration of fish. It was, likewise, demonstrated that the ammonia concentration was varied mainly due to change of the pond water and excretion of fish.

3) A positive, linear relation was found to exist between the degree of change of the pond water and the carrying capacity of the fish pond.

最近，瀬戸内海沿岸では，内湾や島の間を利用して当才ブリ（ハマチ）の養成が盛んに行われるようになつてきた[1)]。そのうち古くからある養魚場例えば安戸池では，放養量の限界が経験的に知られていて，坪当り 1～2 尾が適当とされているが[2)] 養魚場の環境によつてその限界が異なると考えられるから，これを一般に適用することはできない。

そこで著者は放養量の基準を知る手がかりとして，昭和 34 年夏，瀬戸内海沿岸の代表的な幾つかの養魚場の環境条件をしらべ，養魚場の構造と水の交流量との関係を検討した結果，二，三の知見をえたので，ここに報告する。

* 神戸大学教育学部 (Fac. of Educ., Kobe Univ.). 現在は太平洋養魚株式会社 (Taiheiyo Yogyo Co. Ltd.,)

方　　法

調査した養魚場は Fig. 1 に示すように，兵庫県由良港および福良湾，岡山県宇頭湾，香川県揚島および喜平島である。

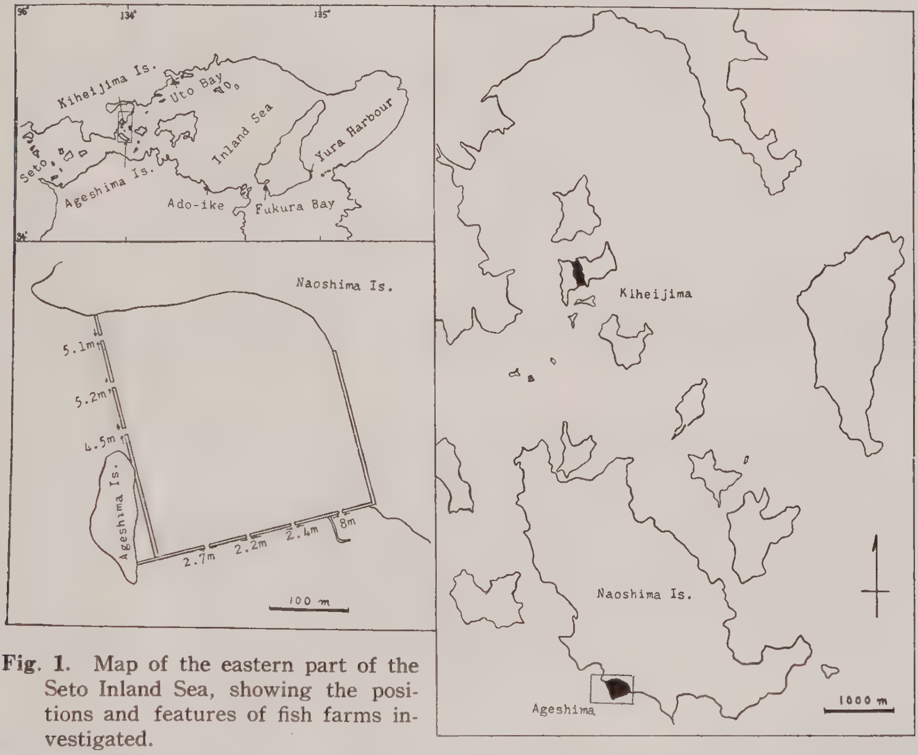


Fig. 1. Map of the eastern part of the Seto Inland Sea, showing the positions and features of fish farms investigated.

各養魚場の最深部で 2m 毎に採水し，水温は 1/5 目盛の棒状温度計を用いて読みとり，塩素量は MOHR の銀滴定法，溶存酸素量は WINKLER 法，pH は比色により，alkalinity は B. C. P. を指示薬とした滴定，過マンガン酸カリ消費量はアルカリ処理，ammonia–N は減圧蒸溜後 NESSLER 試薬により測定した。海水中のプランクトン，有機物等による酸素消費量は，試水を満したガラス容器を密栓して一定時間暗黒中におき，始めと終りの溶存酸素量の差から求めた。

揚島，喜平島では換水門において，大潮期と小潮期に数時間連続して海面の高さを cm まで読みとり，ヒロイ式流速計を用いて流出入水の流速を測定し，同時に採水して水温，塩素量，溶存酸素，ammonia–N を測つた。福良においても大潮期に水門部で験潮柱による潮汐と流速計による潮流観測を行つた。

また由良港内の生簀で養成中のハマチを材料として，摂餌後の胃内容量の変化，流水式による酸素消費量，止水で飼育したときの窒息点，ammonia–N 分泌量を測定した。

結果とその考察

1. 鹹水養魚場の構造と水質　調査した各養魚場の水質は Table 1 のとおりであつて，塩素量の値からは外洋の影響を強く受けている由良，福良と他の内海側養魚場にわけられる。水温の垂直分布は揚島，喜平島では上下一様であるが，その他の養魚場では 0.3～2.7°C の若干の差がある。酸素量については成層の最も著しいのは福良，ついで宇頭湾であつて，揚島，喜平島ではほとんど差はみられない。揚島の酸素量は 3.7 cc/l と他の養魚場にくらべて著しく低いが，これは後述のように放養密度の大きいためである。pH は

Table 1. Environmental conditions of fish farms.

Fish farm	Yura	Fukura	Uto	Ageshima	Kiheijima
Date	July, 7, '59	Aug. 28, '59	Sept. 11, '59	Aug. 6, '59	Aug. 5, '59
Depth, m.	10	9	3.5	3	7.5
Water temp., °C	24.6~23.2	29.1~26.4	29.1~28.8	27.0~27.0	26.6~26.6
Chlorinity, ‰	18.27~18.31	17.86~17.88	17.52~17.59	17.38~17.38	17.32~17.36
Oxygen, cc/l	4.90~4.53	5.19~0.30	4.70~3.03	3.86~3.54	3.96~4.37
pH	8.4 ~	8.4~7.9	8.3~8.1	8.3~8.2	8.3~8.2
Alkalinity, mN	2.26~2.33	2.20~2.25	2.15~2.15	2.17~2.15	2.16~2.15
C. O. D., O_2 mg/l	2.27~2.33	2.08~2.88	1.96~4.11	1.73~2.34	1.70~2.21
Ammonia-N, γ/l	50~	25~300	40~	20~15	30~25
Oxygen consumption* of plankton, etc., cc/l	0.03	0.09	0.02	0.04	0.00

* Oxygen consumption of plankton, organic matter, etc., contained in the sea water.
The left figures of each column indicate the values of upper layers and the right those of lower layers.

宇頭湾の下層ではやや低く，福良では著しく低下している。過マンガン酸カリ消費量，ammonia-N についても揚島，喜平島にくらべると宇頭湾，福良では下層に蓄積の傾向がみられる。

福良，宇頭湾はかなり奥深い内湾の湾口を漁網で仕切つた養魚場であつて，海水は一方から交流するだけであるが，揚島は島と島の間を堤防で直角に仕切つた養魚場であつて，約 280m の南側の堤防には幅 8, 2.4, 2.7, 2.2m の4ケの換水門，約 180m の西側の堤防には幅 4.5, 5.2, 5.1m の3ケの換水門がある (Fig. 1)。また喜平島は長さ約 250m，幅約 140m の海峡を堤防で仕切り，北側には幅 10, 9, 8.5, 3m，南側には幅 3.2, 8.9, 3.3, 2.9m のそれぞれ4ケの換水門がある。したがつて揚島，喜平島の海水の交流状態は福良，宇頭湾よりも良好であると考えられ，各種環境要因も前者では上下層でほとんど一様であり，後者ではかなりの成層をなしている。

2. 鹹水養魚場の海水の交流　Fig. 2 は揚島，喜平島の6月下旬の小潮期と8月上旬の大潮期の潮汐および潮流観測の結果である。この附近では宇野港の潮汐[3] が正確に知られているが，潮時，潮高はほぼそれに一致している。また揚島東方の潮流は高潮より低潮までは東に，低潮より高潮までは西に流れることが知られている。

Fig. 2 によると，揚島では大潮期夜の高潮前約2時間から朝の低潮前約2時間までは，西側から水が流入し，南側から流出する。南側からの流入は低潮になつてから始まつているので，低潮前約 1.5 時間を除いては必ず海水が流入していることになる。小潮期においても低潮時の約1時間を除くと，いずれの側からか必ず海水の流入がある。流入の方向は大潮期のそれにほぼ等しいが，低潮から高潮までは両側から流入する。

喜平島においても大潮期には高潮から低潮までは北側からの流入と南側からの流出があり，低潮から高潮までは南側からの流入と北側からの流出がある。養魚場内への水の流入が全くなくなるのは低潮前 2~1 時間の約1時間である。しかし小潮期の流入は南側のみで行われているようである。

潮位と流速から計算した流量は Table 2 のとおりである。すなわち高潮から低潮までの間をとると，揚島は喜平島より大潮期には 9%，小潮期には 2% ほど流入量が多く，また小潮期の流入量は大潮期の 20% 程度に減少している。低潮時の養魚場の全水量に対する単位時間の流入量の割合（以下，水の注入率とよぶ）は揚島の方が大きい値である。これは揚島の換水門は両側とも同じように働いているが，喜平島では北方の潮流はその地形的影響で阻害され，主として南側の換水門によつて海水が交流するからであろう。

また福良の7月上旬の大潮期，低潮から高潮までの1時間平均流入量は 43300 m^3 であつて水深 5m，面積 80000 m^2 として水の注入率は 0.11，従つて1回の干満を通じての値は揚島，喜平島の小潮期に相当する。

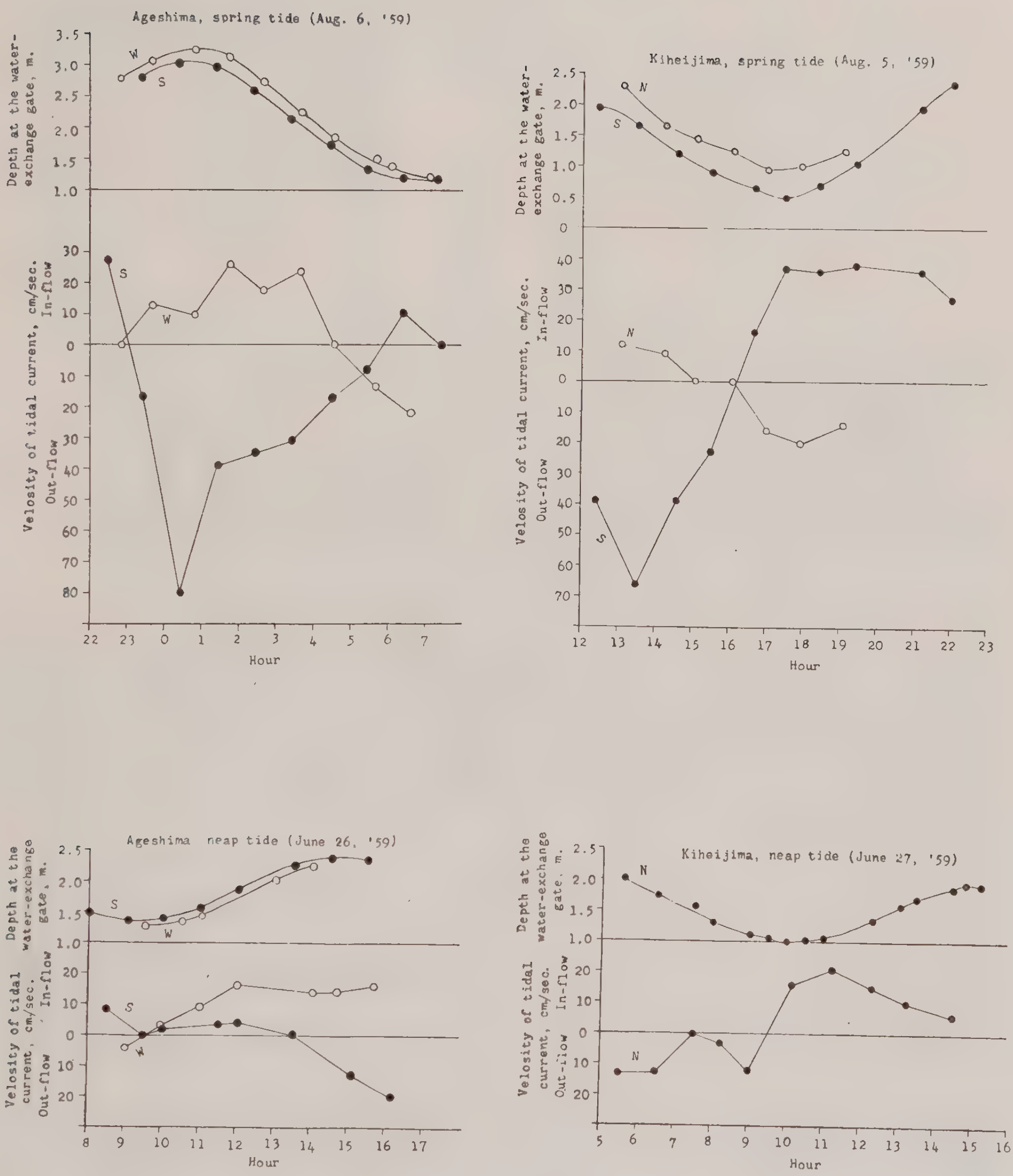


Fig. 2. Tide and tidal current of fish farms.
S: Southern side, W: Western side, N: Northern side.

Table 2. Exchange of sea water in fish farms.

Fish farm	Date	Tide	Time*	Volume of flowing-out water, (m^3/h)	Volume of flowing-in water, (v, m^3/h)	Volumn of** fish farm, (V, m^3)	Rate of flowing-in water per hour (v/V)
Ageshima	June 26, '59	Neap	L－H H－L	2570 —	8070 4600***	3.4×33000	0.063 0.041
	Aug. 6, '59	Spring	H－L L－H	34950 —	21930 33670***	2.5×33000	0.265 0.408
Kiheijima	June 27, '59	Neap	L－H H－L	1480 12900	7920 4380	3.9×33000	0.061 0.034
	Aug. 5, '59	Spring	H－L L－H	32130 —	20100 32070	3.0×33000	0.203 0.324

* L－H: From low water to high water. H－L: From high water to low water.
** Average depth at low water×area.
*** Obtained by calculation as being 5% larger than the values for corresponding time of Kiheijima.

3. 鹹水養魚場の酸素量の変化　夏季の大潮期，揚島の夜間の酸素量の変化は Fig. 3 に示すとおり 4.4～5.7 mg/l の範囲にある。この間の流入水の酸素量は 6.3～6.4 mg/l であつてほぼ一定である。

夜間の養魚場の酸素量は次式[5),6)]にしたがつて変化していると考えられる。

$$\frac{dC}{dt}=K(C_S-C)+\frac{v}{V}(C_I-C)-K_1 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

ただし，C: t 時に溶存する酸素量 (mg/l)，C_S: 飽和酸素量 (mg/l)，C_I: 養魚場に流入してくる水の酸素量 (mg/l)，V: 養魚場の全水量 (l)，v: 単位時間に養魚場に流入する水量 (l/h)，K: 酸素の溶入係数であつて水深を d (cm)，exit coefficient を f (cm) としたとき $K=f/d$，K_1: 魚その他海水中の生物無生物による酸素消費量であつて，ハマチの酸素消費量を k (mg/kg，h)，放養量を A (kg/l)，ハマチ以外の酸素消費量を B (mg/l, h) としたとき $K_1=kA+B$ である[6)]。なお著者の測定では水温 25～29°C，体重 45～76 g のとき $k=860$ mg/kg，h であつた。

(1) 式を積分して

$$C=C_0e^{-K't}+\frac{1}{K'}(1-e^{-K't})(K'C_S-K_1+\varepsilon) \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

を得る。ただし，C_0: 初期酸素量，$K'=K+v/V$，$\varepsilon=v(C_I-C_S)/V$ である。(2) 式より求めた酸素量の変化は Fig. 3 のとおりであつて，夕の低潮時 5.21 mg/l (＝C_0) のときには夜の高潮時まで僅かに増加して 5.27 mg/l となり，再び減少して朝の低潮時には 4.85 mg/l となる。ここに $C_S=7.02$ mg/l (水温 26.5°C，塩素量 17.4‰)，$C_I=6.38$ mg/l，当夜はかなり波立つていたので $f=10$ cm/h[7)]，夕の低潮時には $d=250$ cm，$v/V=0.41$，ハマチの放養量は 44800 kg（1尾平均重 320 g，140000 尾として)，$B=0.06$ mg/l，h (Table 1)，したがつて $K_1=860\times\frac{44800}{2.5\times33000\times1000}+0.06\fallingdotseq0.53$ mg/l，h，その後の v/V，K_1 は d の時間的変化 (Fig. 2) と v の変化 (Table 2) から補正して得た値を用いて算出した。

実測値と計算値の差は最大 0.3 mg/l にすぎず (1) 式が実際に適しうることを示している。

そこで小潮期の酸素量を同様な方法で計算した。ここに夕の高潮時の酸素量 $C_0=4.18$ mg/l[8)]，C_I，C_S には大潮期の値，f としてはゆるやかに攪拌されているときの値 5[7)]，夜の低潮時には潮汐表[3)]から $d=250+90=340$ cm，$v/V=0.04$ (Table 2)，$K_1=860\times\frac{44800}{3.4\times33000\times1000}+0.06\fallingdotseq0.40$ mg/l，h，その前後の v/V，K_1 は d, v の変化から補正し，これらの値を用いると朝には 2.34 mg/l まで減少することになる。著者の測定ではハマチの窒息点は水温 26°C で 1.4 mg/l 前後であつた。したがつて揚島の場合は増重を見込むと収容量は過大ではないかと考えられる。

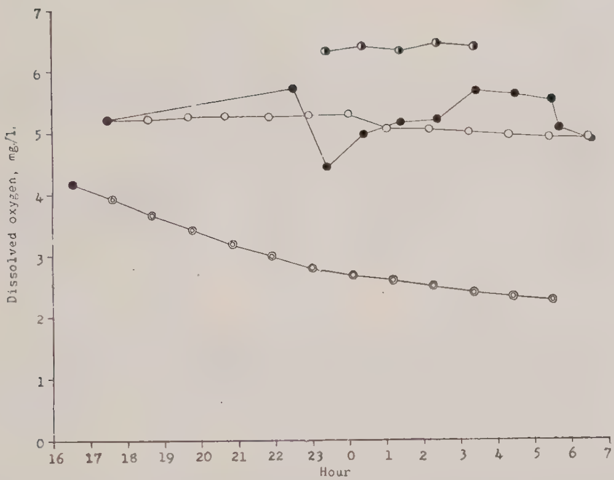


Fig. 3. Variation of the oxygen content of Ageshima fish farm water.

●: Observed values, ◑: Observed values of flowing-in water, ○: Calculated values of spring tide (Aug. 6, '59), ◎: Calculated values of neap tide (Aug. 11, '59).
Calcualted values are obtained by use of Eq. (1), where

C : Oxygen content of farm water at any time, t, mg/l
C_S: Saturation value of dissolved oxygen, mg/l
C_I: Oxygen content of flowing-in water, mg/l
v : Volume of flowing-in water, m^3/h
V: Volume of fish farm, 33000×depth, m^3
$K = f/d$ f, exit coefficient, 10 cm/h (Aug. 6); 5 cm/h (Aug. 11)
d, water depth, 250 cm − 480 cm − 300 cm ($18^h - 0^h - 6^h$, Aug. 6)
430 cm − 340cm − 430 cm ($17^h - 23^h - 5^h$, Aug. 11)
$K_1 = kA + B$ k, oxygen consumption of fish, 860 mg/kg, h
A, weight of fish cultured, 44800/(V×1000), kg/l
B, oxygen consumption of plankton, etc., 0.06 mg/l, h

4. 鹹水養魚場の ammonia-N 量の変化 夏季の大潮期，揚島の夜間の ammonia-N 量の変化は Fig. 4 のとおりであつて，夕の低潮時の $20\gamma/l$ から夜の高潮時には $200\gamma/l$ に増加し，その後は減少して朝の低潮時には $60\gamma/l$ となる。

養魚場の ammonia-N は魚の分泌によつて増加し水の交流によつて減少すると考えると，ammonia-N の変化は次式で表わされる。

$$\frac{dC}{dt} = -\frac{v}{V}(C - C_I) + K_1 \quad \cdots\cdots (3)$$

ただし，C: t 時に溶存する ammonia-N 量 (γ/l)，C_I: 養魚場に流入してくる水の ammonia-N 量 (γ/l)，K_1: 魚による ammonia-N 分泌量であつて，ハマチの ammonia-N 分泌量を k (mg/kg, h)，放養量を A (kg/l) としたとき $K_1 = kA$ である。なお著者の測定では水温 29°C，体重 80〜100 g のとき $k = 21.5$ mg/kg, h であつた。

(3) 式を積分して

$$C = C_0 e^{-v/V\cdot t} + \frac{v}{V}\left(1 - e^{-v/V\cdot t}\right)\left(\frac{v}{V} C_I + K_1\right) \quad \cdots\cdots (4)$$

を得る。流入水の ammonia-N 量の平均 $C_I = 25\gamma/l$，夕の低潮時の ammonia-N 量 $C_0 = 20\gamma/l$，$K_1 = 21500 \times \frac{44800}{2.5 \times 33000 \times 1000} = 12\gamma/l$, h，その後の K_1 は d の変化から補正し v/V には前記の値をとり，これらを (4) 式に代入して各時間毎の C を求めると，Fig. 4 のように，朝の低潮時には $60\gamma/l$ と徐々に

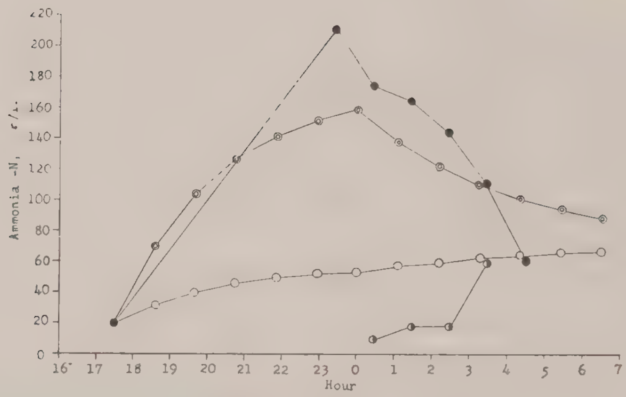


Fig. 4. Variation of the ammonia–N content of Ageshima fish farm water. (Aug. 6, '59)

●: Observed values, ◑: Observed values of flowing-in water, ○: Calculated values, considering that ammonia excretion out of fish is constant, ◎: Calculated values, considering that ammonia excretion out of fish changes in accordance with time.

Calculated values are obtained by use of Eq. (3), where

C : Ammonia–N content of farm water at any time, t, γ/l

C_I: Ammonia–N content of flowing-in water, γ/l

$K_1 = kA$

k, ammonia–N excretion out of fish, $= 21.5\,\mathrm{mg/kg,\ h}$ or

$k = 107.5\,\mathrm{mg/kg,\ h}$ ($18^h \sim 24^h$) $k = 21.5\,\mathrm{mg/kg,\ h}$ ($24^h \sim 6^h$).

増加していくがその変化範囲は実測値に比し著しく低くなつている。

著者の測定したハマチの消化速度は，水温 26°C で餌としてイカナゴを体重の 10.6% 摂餌したときには 1.5 時間後には摂餌量の約 25%， 3時間後には約 77% が消化され， 7時間後には胃に餌を認められなかつた。

当日，揚島では 16～17 時に 4800 kg（1280 貫）投餌している。したがつて投餌率 $\dfrac{4800}{0.320 \times 140000} = 0.107$ であるから夜の高潮時までには消化されていたと考えられる。かりに低潮から高潮までの 6 時間すなわち摂餌後約 7 時間の ammonia–N 分泌量は測定値の 5 倍（$k = 107.5\,\mathrm{mg/kg,\ h}$），高潮から低潮までの 6 時間すなわち摂餌後 7～13 時間は $k = 21.5\,\mathrm{mg/kg,\ h}$ と考えると，$20\gamma/l$ から 6 時間後には $150\gamma/l$ に増加し，続く 6 時間には $90\gamma/l$ と減少し，実際の変化と比較的よく一致する。

なお大潮期から小潮期までの水の流入率の変化を考慮して同様な計算を繰返すと，小潮期には $400\gamma/l$ の最大値に達すると推定される。魚種によつては 0.3 ppm で悪影響があるとされているので，小潮期には酸素量の減少のみならず ammonia–N 量の増加についても注意する必要があろう。

5. 鹹水養魚場の水の流入と収容量　(1) 式において養魚場の酸素量がハマチの成育に必要な最低量だけ常に保たれているとすると

$$K_1 = \frac{v}{V}(C_I - C) + K(C_S - C) \qquad \cdots\cdots(5)$$

が成り立つ。$K_1 = kA + B$ の関係から (5) 式は

$$A = a\frac{v}{V} + b \qquad \cdots\cdots(6)$$

となる。ただし $a = 1(C_I - C)/k$, $b = 1\{K(C_S - C) - B\}/k$ である。したがつて a, b を一定と考えると，ハマチの放養可能密度 A と水の流入率 v/V との間には上式で表わされる直線的な関係が成り立つことになる。

Table 3. Water exchange and number of fish cultured in fish farms.

Fish farm	Volume of fish farm, (m^3)*	Number of fish cultured	Number of fish per $10\,m^3$	Rate of flowing-in water**
Ageshima	2.5×33000	140000	16.9***	0.337
Kiheijima	3×33000	70000	7.1	0.264
Fukura	5×80000	50000	1.3	0.054
Uto Bay	2.5×40000	50000	5.0	—
Ado-ike	6×270000	150000	0.9	—

* Average depth at low water × area.
** Average value during a flood and ebb at spring tide.
*** Average body weight: about 300 g.

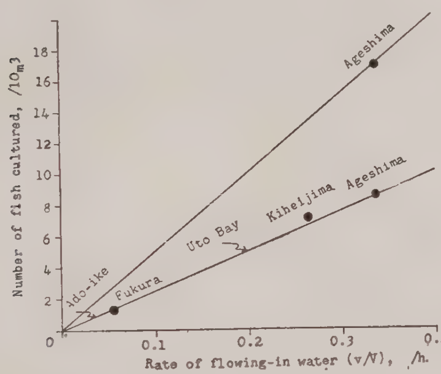


Fig. 5. Relation between the rate of flowing-in water and the number of fish cultured in fish farms.
Upper line: Body weight 600 g.
Lower line: Body weight 300 g.

各養魚場の放養密度と水の流入率はTable 3 のとおりであるが，そのうち揚島では体重 320g のときにすでに酸素量の減少と ammonia–N 量の増加が著しく，放養量の限界に達していたものと思われる。夏の間に 600g の大きさにまで養成する[1] ものとすると安全な放養密度は $17\times\frac{320}{600}\fallingdotseq 9$ 尾/$10\,m^3$ である。

水の流入率が 0 のときにも (6) 式の b だけの放養が可能なわけであるが，揚島では $K(C_S-C)=\frac{5}{250}(7.02-2.24)=0.09\,mg/l$, h，$B=0.06\,mg/l$, h であるからそれを無視すると，Fig. 5 のように原点と 9 尾/$10\,m^3$ の点を通る直線の下方は安全，原点と 17 尾/$10\,m^3$ の点を通る直線の上方は危険，その中間は増重を見込まぬ養成のときは安全な範囲と考えられる。

喜平島，福良の値は安全度を考えたときの直線上にのつている。なお，宇頭湾，安戸池の水の流入率を Fig. 5 から求めると，前者では 0.2，後者では 0.04 となる。安戸池の値は福良に近いが，養魚場の形態からも両者の近似は予想されるところである。また宇頭湾もその形態や各種環境要因の成層形成の程度から考えると水の流入は福良程度であろうから放養量は明らかに過大であつて，恐らく増重を見込まぬときの安全限界程度に放養されていたと考えられる。

結　　論

以上述べてきたことから，内湾を仕切つた養魚場よりも島と島の間を利用した養魚場の方が放養密度は大きくなしうることがわかる。また後者の場合においても，水の流入はその地形的条件によつて影響され，潮流が阻害されるような場所では換水門はその機能を十分発揮しない。したがつて新しく養魚場をつくるに当つては，これらのことを念頭において，施設の強度や経費を考慮しつつその場所を選ぶべきである。

いま養魚場の水の流入率がわかれば Fig. 5 からその収容量が概算される。その場合の著者の観測は断片的であつたが，約 1 昼夜にわたつて潮汐と潮流を観測した場合には分潮の調和常数が求まり，それより各養魚場にそれぞれ固有の流入量が予測されるから放養量の推定は一層合理的なものとなるであろう。

なお，水の流入量，魚の放養量がわかつている時には，養魚場の酸素量，あるいは ammonia–N 量の変化が予め計算される。それによつて好ましくない状態が予想されるなら，その時期に投餌量を加減して酸素消費量，ammonia–N 分泌量を減少させる等の処置を講ずべきである。

要　　約

瀬戸内海沿岸にあるハマチ養魚場の水質，海水の交流を観測してつぎの結果を得た。

1)　島の間の2方を仕切つた養魚場（揚島，喜平島）は内湾の湾口を仕切つた養魚場（福良，宇頭湾）にくらべると，各種環境要因の垂直分布に上下差が少い。

2)　前者の養魚場では低潮時の約 1〜2 時間を除いて，いずれの側からか海水の流入がある。

3)　養魚場の酸素量の変化は海水の流入と大気からの溶入によつて増加し，魚の消費によつて減少すると考えたときの計算値に一致する。

4)　養魚場の ammonia-N 量の変化は魚の ammonia-N 分泌量が摂餌後時間的に変化すると考えたときの計算値に一致する。

5)　養魚場の水の流入率と放養量との間には直線的な関係がある。

最後に本研究において御指導にあずかつた東大大島泰雄教授に深謝の意を表する。また観測に御協力をいただいた揚島，喜平島，宇頭湾養魚場の方々，兵庫県水産業改良普及嘱託員片島一男，仲野達也両氏および矢野端氏に厚く感謝する。なお，本研究は昭和 34 年度文部省科学研究費によつたことを附記し謝意を表する。

文　　献

1)　橘高二郎：　水産増殖，**7** (1)，7〜30 (1959).
2)　野網和三郎：　第1回瀬戸内海鹹水養殖研究会講演（宇野），(1959).
3)　海上保安庁：　潮汐表，**1**，17 (1959).
4)　————：　———，**2**，11 (1952).
5)　Downing, A. L. and Truesdale, G. A.:　*Zoologica*, **41**, 129〜143 (1956).
6)　佐伯有常：　水産増殖，**6** (4)，123〜126 (1959).
7)　Downing, A. L. and Truesdale, G. A.:　*J. Appl. Chem.*, **5**, 570〜581 (1955).
8)　岡山水試：　鹹水養魚場観測結果 (1959).

クロダイ人工孵化仔魚の飼育とその成長について

笠原正五郎・平野礼次郎・大島泰雄

(1959年12月16日受理)

A STUDY ON THE GROWTH AND REARING METHODS OF THE FRY OF BLACK PORGY, *MYLIO MACROCEPHALUS* (BASILEWSKY).

Shogoro KASAHARA*, Reijiro HIRANO** and Yasuo OHSHIMA**

Hitherto, many attempts have been made to rear the larvae hatched from the pelagic eggs of various kinds of marine fishes. However, notwithstanding the efforts made by many biologists and fish-culturists, no satisfactory method to raise the fry and to maintain their survival at a high percentage has yet been achieved.

The authors made three trials in the artificial fertilization of the black porgy, *Mylio macrocephalus*. These three trials were carried out at the Iride fish market, situated on the western coast of Hamana Bay, on the 30th of April, the 7th of May and the 23rd of May, 1959. Rearing experiments were carried out at the Ikawazu Fisheries Laboratory, Aichi Pref. to which the fertilized eggs were transported from there.

The eggs hatched out in 40～50 hours and 60～70 hours at water temperatures of 19°C and 17°C respectively (Table 1). As food for the hatched out larvae, substantial amounts of several kinds of protozoa were previously cultured and given to them from a few days after hatching. It was observed that the fry, shortly before the yolk sac was entirely absorbed, namely at the age of two to three days after hatching, began to feed on fine Dino-flagellata, *Oxyrrhis sp.* ($10\sim30\mu \times 8\sim15\mu$). Subsequently, at fry measurements of 3～3.5 mm. in total length, a species of Spirotricha, *Stylonchia sp.* ($50\sim100\mu \times 30\sim40\mu$) were largely fed on by the fry. Later, as the fry grew, they were observed to take in various living food organisms of gradually larger size in direct relation to their growth. For instance, in our experiments it was observed that the fry took the nauplius of copepoda or barnacle at 4～4.5 mm. in total length, ie. 9～12 days after hatching; the nauplius of brine shrimp at about 5 mm. in total length, ie. 15 days after hatching; young mysid shrimp at about 7 mm. in total length, ie. 3～4 weeks after hatching and finally the fry was able to feed on chopped fish when they measured about 15 mm. in total length, ie. 6～7 weeks after hatching (vide Fig. 2).

As to the number of fry that survived, we obtained 638 young porgies (13% to the number of the hatched larvae) after 52 days in the first round of rearing, 614 fry (17.5%) after 45 days in the second trial and 102 fry after 60 days in the last trial. In each trial to raise the larvae, a considerablly high mortality occurred at the age of 6～8 days after hatching. It is observed that these days are the period when the fry change their diet from protozoa to larger food organisms. Further study is necessary so as to make it possible to improve the survival rate of the fry especially during this critical period when the fry changes its diet from protozoa to larger living organisms. Once this critical period was crossed it was observed that the fry grew rapidly, reaching about 4.5 mm. after two weeks, 10.1 mm. after a month and 32.0 mm. (1.03 gm. in body weight) at the age of two months (Fig. 3).

海産魚のうち浮游卵をうむ魚について人工受精によつて得た卵から孵化した仔魚を飼いあげた記録はあるけれども，歩留りよく多量の稚魚を飼育によつて得た例は稀である。クロダイ *Mylio macrocephalus* (BASILEWSKY) についても同様のことがいえるのであるが[1]，本年 (1959) 漸くその成功の端緒をつかみ得たの

* 東京大学農学部附属水産実験所 (Fish. Lab., Fac. of Agr., Tokyo Univ.)
** 東京大学農学部水産学科 (Fish. Dep., Fac. of Agr., Tokyo Univ.)

で，ここではその研究結果の概要を報告する。

実験および結果

人工受精

採卵は静岡県浜名郡湖西町入出漁協に集荷されたものの中から，腹部を軽く圧して成熟卵を出すものを選んで行つた。受精は乾導法をつかい，受精卵は新しい海水で洗滌してから，愛知県渥美郡渥美町伊川津の東大水産実験所に持ち帰り，孵化水槽に収容した。本年は4月30日，5月7日および23日に都合3回の人工受精を行つたが，供用卵数はそれぞれ約 10,000，10,000，40,000 個程度で，1尾から期待される全量ではない。これは親魚が市場に集荷されるまでに卵を放出しているからであろう。

なお，この地方におけるクロダイの産卵期は数年来の採卵経験から推して4月下旬～6月上旬と考えられる。本種は木下 (1936[2), 1939[3))，大島 (1942[4)) の述べているように原則として雌雄異体，雄性先熟であり，人工受精で使えるいわゆる雌は3才あるいはそれ以上，雌は4才以上の大きさのものである。

孵　化

卵内発生および孵化に関してはすでに報告されている通りであり[5)6)7)8)]，これらに詳細な記載があるので，ここでは若干の知見を加えることにとどめる。

使用海水の塩分濃度は，Cl′ 12.5‰ 以下では孵化しないので*，14‰ を限界としておくのが安全であろう。孵化に要する時間は Table 1 の通りであり，水温 19°C 前後で 40～45 時間を要した。孵化率は 70% 前後であつたが，この点については，受精を実験室内で行わず受精後直ちに運搬していること，1尾の孕卵数を全部収納しておらず，むしろ大半が放卵された残余の卵を用いたと思われることなどの事情から，幾分低率になつていると思われる。

Table 1. Hatching rates at various incubation times and water temperatures.

Date of the artificial insemination	Incubation period (hours)	Water temperature (°C)		Remarks	
		range	mean	Cl′ (‰)	Hatching rate (%)
′57 May－14, 6ʰ00′	65～75	15.5～18.5	17.1	14.5	17.8*
′57 May－23, 4ʰ00′	52～56	17.5～19.8	18.8	14.6	55.0
′59 Apr.－30, 17ʰ30′	41～45	17.2～20.7	19.1	14.4	—
′59 May－ 7, 18ʰ40′	61～68	15.3～18.0	16.7	16.2	68.6
′59 May－22, 18ʰ30′	40～44	18.2～20.5	19.3	16.7	72.7

* The fertilized eggs were insufficiently rinsed.

飼　育

飼育容器としてはガラス水槽 (2～5l)，水蓮鉢 (径 50cm，深さ 20～25cm)，大小のコンクリート水槽 (面積 3.3～13.2m^2，深さ 0.3～0.5m) を使用した。これらに飼養密度を変えて孵化仔魚を収容し，予め培養したつぎに述べるような餌料を与え，始めの 1～2 週間は止水で，その後は少量の海水 (Cl′ 11.2～14.8‰) を注入し，ゆるやかに換水しながら飼育した。水温の調節は特に行わなかつたが，約2ケ月の飼育期間中 17～25°C の範囲内で経過した。

餌　料

孵化仔魚 (全長平均 2.06mm，1.97～2.18mm) は 2～3 日で卵黄を吸収するが，摂餌は卵黄が吸収しつくされる以前から始まるようである**。初期の餌料としては鹹水性の Flagellata および Ciliata に属する

* Cl′ 13‰ 以上では 40～70% の孵化率を示したが，12.5‰ では孵化しなかつた。

** 孵化4日後に無投餌区の仔魚は平均全長 2.80mm (2.53～2.94) である (この頃より斃死急増) のに対し，投餌区のそれは 3.00mm (2.88～3.06) ですでに成長の差が見られた。

数種を試みたが，餌料を中性赤で染色して投与して摂餌の如何を調べた結果および餌料の種類別の飼育実験結果から，一応最初の餌料として Dinoflagellata の一種 *Oxyrrhis sp.*，次期には Ciliata の一種 *Stylonchia sp.* を使うことにした。前者は無色の鞭毛虫で長径 10〜30μ，短径 8〜15μ の大きさであるが，しかしこれを摂餌する期間は比較的短く，間もなく後者を捕食するようになるので，孵化後 4〜5 日には後者を混合投餌することが必要であろう。後者の大きさは長径 50〜100μ，短径 30〜40μ で，これを摂り始める仔魚の大きさは 3〜3.5 mm であつた。

なお，これら2種の培養は有機物を適当に与えることにより，室温，暗所で容易に行うことができ，グルコーズ，乾草などを用いて大量に培養したが，乾燥酵母エキスを用いた室内単一培養の結果では，前者はその濃度が 100 ppm 程度で，後者は 300 ppm 程度 (Fig. 1) で，それぞれ良好な増殖が見られた。

その後，仔魚は孵化後 9〜12 日（全長 4 mm 前後）になると 200〜400μ 程度の微小動物，例えばシロスジフジツボ *Balanus amphitrite albicostatus* や橈脚類のノウプリウスを捕食するようになり，さらに 15 日頃（全長 5 mm 前後）になつて始めてブラインシュリンプ *Artemia salina* のノウプリウス (380〜680μ) を摂り，全長 7 mm（約3週間後）になると，汽水池で多量に採集されるニホンアミ *Neomysis japonica*（稚仔 2.2〜2.3 mm）を捕食することができるようになる。飼育に当つては以上の段階にしたがつてこれらの餌料を順次に投与した。

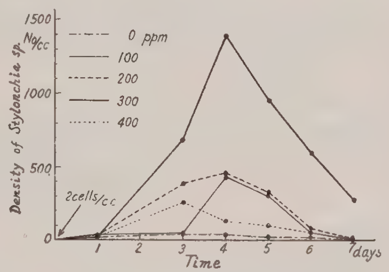


Fig. 1. Propagations of *Stylonchia sp.* in media to which yeast extracts were added in various concentrations (ppm).

このように仔魚の捕食し得る餌の大きさはその成長につれて増大するのであるが (Fig. 2)，捕食の上からいえば大きさのみでなく餌料生物の動きや形態も問題になる。例えば初期の餌料として 10〜30μ の Dinoflagellata が捕食されるのに同じ程度の大きさの Ciliata は使えないことが判つたが，このことは Ciliata の動きが速く仔魚の行動がこれを捕食し得るほど充分活潑でないということも一つの原因である。なお，仔魚が全長 15 mm 前後（稚魚期）に成長すれば細砕した魚肉を摂るようになるので餌の問題は一応解決する。

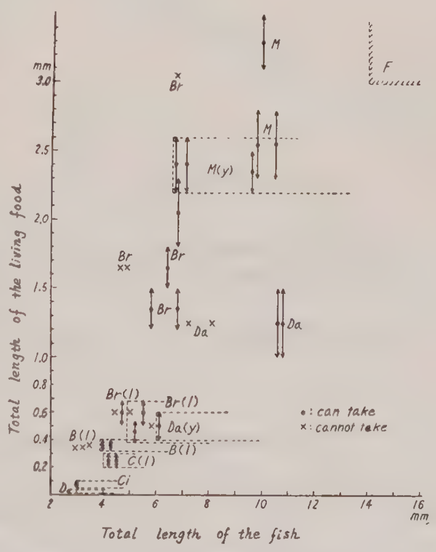


Fig. 2. Size-changes of living food in relation to the growth of porgy fry. D; Dinoflagellata, Ci; Ciliata, B; Balanus, C; Copepoda, Br; Brine-shrimp, Da; Daphnia, M; Mysis, F; Fish meat, (l) larva, (y); young.

また，初期の飼育上問題となる点に投餌量，つまり飼育水中の餌料微生物の密度があるが，この点については後報に譲ることにする。ただ protozoa を餌料に使う場合には培養液が飼育海水に混入することを避けることが困難であり，特に有機物を多量に含む場合には一般に飼育上悪い影響を与える恐れが多分にある。しかしクロダイ仔魚はシロギスなどの仔魚に比して有機物含量の多い海水に対する抵抗性が強く，この水質の点でも，またその他の取扱いの上からいつても飼育が容易であるように感じられる。また飼育水中に多量の有機物が混入することにより，緑色素をもつ protozoa 等が大量に発生する場合があり，この結果ひき起こされる過飽和の酸素状態に対してクロダイ仔魚は極めて弱いことが認められた。

歩　留　り

飼育結果の良否を判定するきめ手は歩留りをみることであるが，本年は漸く飼育の見通しができた程度でこの点に触れる程充分な資料がないが，一応その結果を取り纏めるとつぎのようになる。

第1実験：　コンクリート水槽 ($13.2\,m^2 \times 0.5\,m$) に孵化仔魚約 5000 尾を収容した例では 52 日後に 638 尾が生き残り，生存率は約 13% となつた。この時取り揚げた稚魚の大きさは平均体長 22.4 mm (範囲 14.1〜33.2)，平均体重 0.40 g (0.06〜1.05 g) であり，これは養殖種苗として充分利用できる大きさである。

第2実験：　水蓮鉢 (25〜30 l 容量) に孵化仔魚 200 尾を収容した 9 例について，孵化後 10 日目の生存率は平均 32.7% で，最良の場合で 68.0% であつた。またコンクリート水槽 ($13.2\,m^2 \times 0.5\,m$) に 3500 尾を収容した例では，45 日後の生存尾数 614 尾で生存率は 17.5% であつた。

第3実験：　コンクリート水槽 ($6.6\,m^2 \times 0.3\,m$) に約 20,000 尾の孵化仔魚を収容したが，初期にガス病その他の支障があつて一時に大量を斃死させたので 60 日後の生存尾数は 102 尾に過ぎなかつた。この時の稚魚の大きさは平均体長 32.0 mm (範囲 21.6〜45.5 mm)，平均体重 1.03 g (0.30〜3.15 g) であつた。

なお，第1実験でガラス水槽で飼育を行つた場合は思わしい成績をあげることができなかつた。また，飼育中の歩減りはいずれの場合にも孵化後 9〜8 日頃が顕著のようで，あるいはこの辺にクロダイ仔魚のいわゆる Critical period があるのかも知れない[9]。これらの諸点については今後さらに深く追究する必要がある。

成　長

仔魚の成長については，すでに述べたように上記の飼育実験中機会ある度に魚体の大きさを測定したが，その結果を取り纏めると Fig. 3 のようになる。経験的に孵化後の経過日数 t と全長 L (mm) との間には $\log L = 0.3894 + 0.01974 \cdot t$ が適用される。ただし，これは卵黄を吸収してから孵化後 60 日までの期間についてであり，その後の成長度は次第にこれより低下する。因みにその後の測定値を示すと，72 日後の平均体長 41.0 mm (24.6〜59.0)，120 日 (4ヶ月) 後の平均体長 68.1 mm (54.3〜96.0)，平均体重 11.3 g であつた。

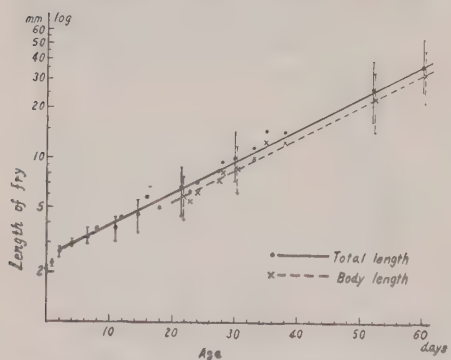


Fig. 3. The growth curve of porgy fry (water temperture; 17〜25°C).

なお仔魚後期の成長に伴う体形の変化，外部器官の発達などについては Pl. 1 に示したが，黒色素胞 (後に横縞を形成する[8]) の現われ方に特徴が見られる程度であり，またその習性についても趨光性のあることや日中は継続的に摂餌することなどが観察されたが[9]，これらに関して特異な点は認められなかつた。

摘　　要

クロダイの人工受精を行い孵化仔魚の飼育を試み，つぎのような結果を得た。

1. 仔魚は始めに protozoa の *Oxyrrhis sp.* を，ついで *Stylonchia sp.* を摂り，その後フジツボ，橈脚類などの各幼生を，さらに全長 5 mm (孵化後約 15 日) 前後で始めてブラインシュリンプのノウプリウスを捕食するようになり，全長 7 mm 位からはアミを捕食する。また 15 mm 程度に達すると細砕した魚肉などを摂るようになるので餌料の問題は一応解決する。

2. 上記の餌料を用いて飼育した結果相当数の稚魚を得ることができたが，その歩留りは第1回実験の場合は 52 日後において約 13% (638 尾)，第2回実験の場合は 45 日後において 17.5% (614 尾) であつた。歩留り，特に Critical period (いずれの場合にも 6〜8 日後に大量斃死が見られている) のそれを良くするためには，餌料その他の点について今後さらに追究する必要がある。

3. 仔魚（孵化直後の全長 2.03 mm）は，2 週間で全長 4.5 mm，3 週間で 6.6 mm，さらに 30 日で 10.1 mm（体長 8.6 mm），60 日で体長 32.0 mm，体重 1.03 g に成長し，この期間には全長（L mm）と孵化後の経過日数（t）との間に，$\log L = 0.3894 + 0.01974t$ の関係式が適用される。

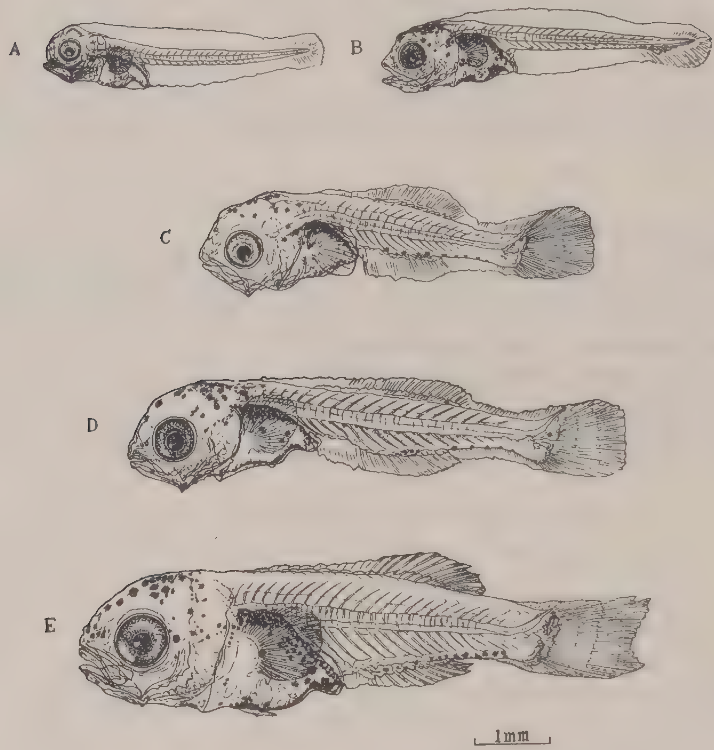
4. 仔魚の成長に伴う体形の変化やその習性については特に注目されるような点は認められなかつた。

終りに臨み，人工受精の実施に当り種々の便宜を与えられた静岡県湖西町入出漁業協同組合長水谷常吉氏および組合員諸氏，ならびに種々御助言を頂いた東大水産実験所中村中六助教授に深く感謝する。

文　　献

1) 梶山英二・西岡丑三：水産研究誌，**25** (2)，35〜40 (1930).
2) Y. Kinoshita: Jour. Sci., Hiroshima Univ., Ser. B, Div. 1, **4** (5), 69〜79 (1936).
3) ――――――: Jour. Sci., Hiroshima Univ., Ser. B, Div. 1, **7** (2), 25〜37 (1939).
4) 大島泰雄：本誌，**10** (6)，249〜255 (1942).
5) 岸上鎌吉：水産学会報，**1** (3)，196〜197 (1916).
6) 妹尾秀実：動物学雑誌，**24** (282)，195〜197 (1912).
7) 神谷尚志：水産講習所試験報告，**11** (5)，76〜78 (1915).
8) 九州大学水産学第 2 教室：日本産魚類の稚魚期の研究第 1 集，66〜72 (1958).
9) 倉田　博：北海道区水産研究所研究報告，(20)，117〜138 (1959).

Pl. I. Postlarvae of *Mylio macrocephalus*.



A: about 6 days old, 3.6 mm in total length.
B: 〃 11 days old, 4.2 mm 〃
C: 〃 18 days old, 5.2 mm 〃
D: 〃 21 days old, 6.6 mm 〃
E: 〃 23 days old, 7.6 mm 〃

Sonobuoy による魚群検知に関する一実験

橋本富寿・西村　実・間庭愛信

(1959 年 12 月 16 日受理)

TRANSLATION IN REPRINT FILE

DETECTION OF FISH BY SONOBUOY

Tomiju HASHIMOTO, Minoru NISHIMURA and Yoshinobu MANIWA*

The detection of fish shoal by their swimming sound is usually made by research vessels, or, in case of set net fishing, by the cable transmission of under-water sound to coastal receiving stations.

To listening simultaneously to the sea noises of several locations or surveying the fish location by the sound originated from fish school, it has been demonstrated that the sonobuoy's disposition offers an easier and more economic survey. The observation is made by setting several sonobuoys at sea and receiving the under-water sound through the radio system at a coastal station.

The sonobuoy device consists of hydrophone, audio amplifier, radio transmitter and receiver, speaker, pen-recorder and tape recorder. The under-water signal received by hydrophone is recorded on the penrecorder or on the magnetic tape recorder. The effective communication range of sonobuoy is up to 10 km.

The observation obtained at fixed set-net fishing ground has demonstrated that the sonobuoy can clearly distinguish the sound of fish school (mainly yellow-tail) from the sea noise, and that the frequency of sound generation at the entrance of set-net has a certain relation with probable catch of yellow-tail.

We can conclude that in future, the forecast of fish catch may be possible by listening to the sound of fish by means of such a device.

緒　　言

魚群の発する水中音などを聴音して魚群を検知する場合，あるいは大洋中の騒音を測定するとき，従来は船を海上に停めて聴音するか，定置網などでは網の中に水中マイクロホンを置き，ケーブルで水中音を陸上まで有線伝送した。しかし多くの地点の海中騒音を同時に観測し，または魚群の水中音によつて魚道調査を行うような場合には，海上に数個の Sonobuoy を置き，無線で水中音を陸上に送つて観測すれば，観測は容易で，かつ経済的である。そこで筆者等は Sonobuoy を試作し海中騒音，魚群(主にブリ)の水中音の連続観測を行つた結果，所期の目的を達したのでその概要を報告する。

1. 装　　置

試作した 2 組の Sonobuoy はいずれも海上に設置する送信ブイと，陸上の受信装置で構成される。Fig. 1 にその綜合系統図を示した。送信ブイは Fig. 2 のような外形寸法で，水中マイクロホン，増幅器，無線送信器，蓄電池およびアンテナから構成されている。Fig. 3 は海上に設置した送信ブイを示す。受信装置はアンテナ，受信器，ペン書きオシログラフ，高声器および磁気録音機から構成されている。Fig. 4 に受信装置の外観を示す。魚群の水中音はそれぞれのブイの水中マイクロホンで受信し，増幅して超短波で受信器

* 水産庁漁船研究室 (Fish. Boat Lab., Fish. Agency, Min. of Agric. and Forestry, Tokyo Japan).

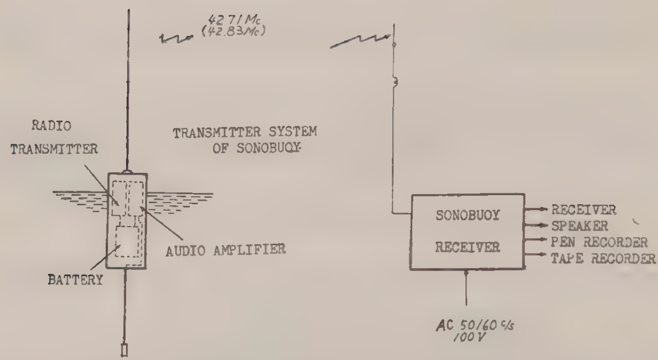


Fig. 1. Schematic diagram of Sonobuoy system.

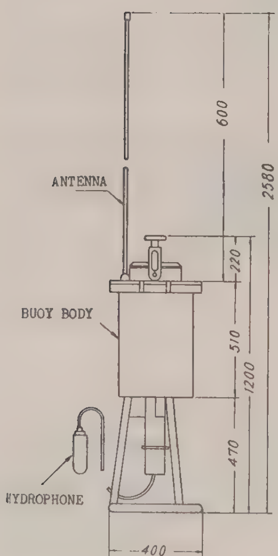


Fig. 2. Dimension of Sonobuoy.



Fig. 3. Sonobuoy in operation.

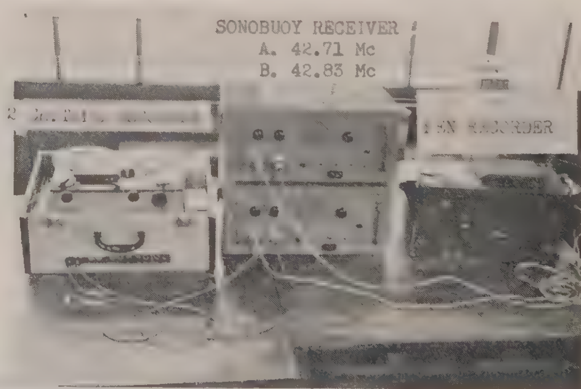


Fig. 4. Sonobuoy Receiving device used at fixed set net observation.

に送られ，受信器出力によつて高声器で聴音するか，オシログラフの記録紙上に水中音レベルを画かせるか，あるいは 2 channel の磁気録音機に収録できるようにした。

風浪によつてブイのアンテナが動揺するために起る電界強度の変動に対する受信出力の変動を防ぐためと，

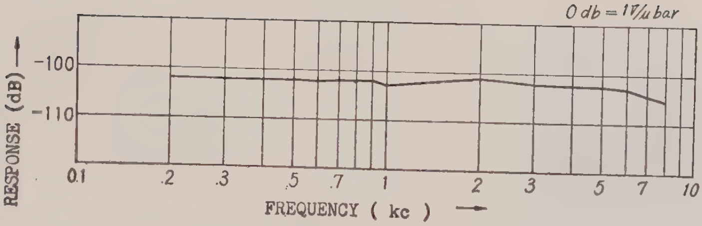


Fig. 5. Frequency characteristics of hydrophone.

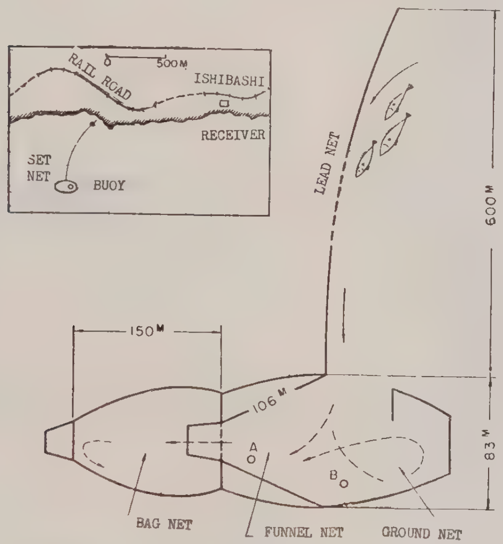


Fig. 6. Location of Sonobuoy in set-net.

空中雑音の影響を考慮し，無線の変調方式は周波数変調方式とした。電波は 42.71 Mc および 42.83 Mc の超短波で，有効通達距離は約 10 km である。

各部の主な特性はつぎの通りである。

1) 送信ブイ

a) 水中マイクロホン： チタン酸バリウム製 38φ, 長さ 30 mm の円筒振動子で， Fig. 5 にその周波数特性を示した。

b) 送信器出力： 100 mW

c) アンテナ： ポリエステル被覆，長さ 1/4 波長の垂直アンテナで，中空構造である。これは蓄電池ガスの排気と，ブイの内外圧の平衡を保つためである。

d) 電源： A 電源は 2 volt, 28 AH の蓄電池 2 ケ，B 電源は 120 volt のアルカリ電池である。

e) 大きさ　主要寸法は Fig. 2 に示した通りで，重量は 53 kg である。

受信器は二重スーパー・ヘテロダイン方式で低周波出力は 1 W である。

2. 実　　験

Sonobuoy の実験の第一着手として，ブリなどの水中音を検知し，定置網に入る魚群量との関係を調べるため， 3 月 12 日より 23 日までの間，神奈川県小田原市米神のブリ定置網漁場で実験を行つた。2 個の Sonobuoy は Fig. 6 の定置網の A 点と B 点に設置し，受信装置はブイより北東 1.5 km 離れた石橋部落の漁業事務所に設け，網に入る魚群（主としてブリ）の水中音を 10 昼夜にわたり連続観測した。その結果，水

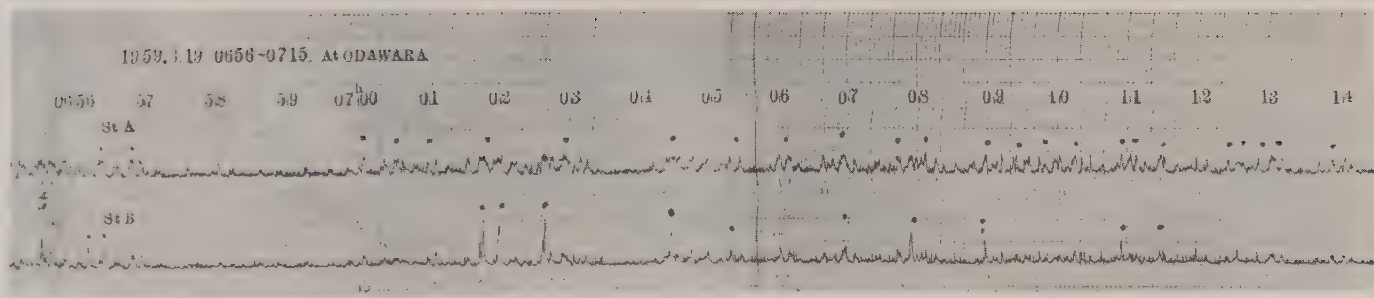


Fig. 7. Under-water sound of fish appeared on pen-recorder (The dotted point on the traces are the sound of fishes. Upper trace is that for A buoy and lower for B buoy in set net).

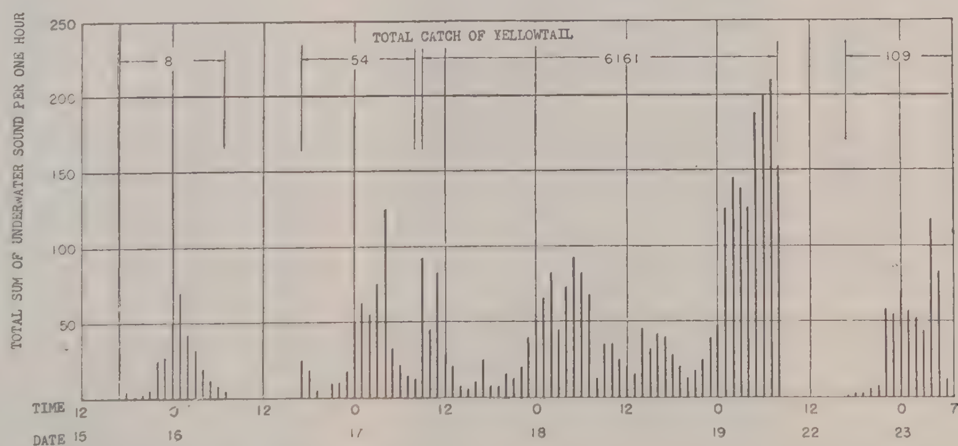


Fig. 8. Relation between the number of underwater sound and catch of fishes.

中マイクロホンから送られてきた水中音を高声器で聴取すると，その音色からも，大きさからも海中騒音とはつきり区別することができた。Fig. 7 は水中音の記録で，水中音と海中騒音との S/N 比（信号対雑音比）は 10～15db である。

魚群の1時間当りの水中音発生回数を縦軸にとり，横軸に日時を示せば，Fig. 8 のようになる。図中上方の数字は漁獲されたブリの尾数を示している。今後多くの実験を重ねなければ断言できないが，この図より前回と同様に[1]，水中音の回数が増すにしたがい，漁獲尾数も増加する傾向が認められた。

3. 実験結果

定置網漁場で，はじめて行つた試作 Sonoduoy による魚群の検知実験の結果を要約すればつぎの通りである。

1) ブリなどの魚群の発する水中音は海中騒音とその音色，大きさが異なるので，明確に区別して聴音することができ，その S/N 比は 10～15db である。
2) Sonobuoy を定置網に応用した一例では，ブリの水中音の記録回数とその漁獲尾数とが対応することが認められたので，定置網への入網魚群量の予知は可能であると考えている。
3) 前回のケーブルによる有線伝達方式に比べ，今回の無線伝達方式の Sonobuoy では，海上で水中マイクロホンの移動が自由で，天候，海況の影響をうけず，陸上において昼夜をわかたず海中騒音，魚群の水中音の連続観測ができ，しかも経済的であることがわかつた。

謝　　　辞

Sonobuoy の試作を担当された沖電気工業 K. K. 萩野，今村，秋元の各氏，海上実験に協力された相海漁業山田又市氏，米神鰤網漁場石黒平三氏以下各位，ならびに周波数割当にあたり配慮された電波関係当局に謝意を表する。

文　　　献

1) 橋本・西村・間庭： 漁研技報，第 10 号，昭 32. 4.
2) 橋本・間庭： 音響学会講演論文集，昭 33. 10.

ワカメの生態に関する研究—V.

養殖ワカメの形態について（その1）

斎 藤 雄 之 助

(1959 年 12 月 16 日受理)

AN ECOLOGICAL STUDY OF *UNDARIA PINNATIFIDA* SUR.—V. ON THE SHAPE OF CULTURED FRONDS—1.

Yunosuke SAITO*

It has been widly accested that in the species *Undaria pinnatifida* SUR., two different forms, *f. typica* and *f. distans*, have been. However, the necessary characteristics to differenciate the A-form from B-form have not adequately been clarified.

This study was carried out for the purpose of finding out the fittest characteristics useful to indentify these forms.

The materials and the method of investigation are as follows:

(1) The materials were collected from the fronds which were introduced from various original habitats and cultured by hanging-method in Toyohama Harbour, Chita District, Aichi Pref., and also from the fronds in natural habitat at Toyohama and Ōno, in the same district.

(2) On these materials, biometrical investigations were made on several portions of the same frond, such as the length of frond (L_1), the length of stipe (L_2), the distance from the lowest margin of blade to the upper end of sporophyll-part (L_3), the width of frond (W: the broadest portion in young fronds; W_1: the broadest portion of pinnate blade in adult fronds; W_2: the same of basal part of blade), the number of pinnate blade (N_1), the number of wrinkle of sporophyll (N_2), and the shape of sporophyll etc. (vide Figs. 1, 3∼8).

Then, these numerical values and interrelations between some of them were compared among the cultured fronds introduced from three original habitats (Toyohama, Ōno and Oginohama, Miyagi Pref.), those between the wild and cultured fronds and also those between the fronds of the first and second generations.

The results obtained may be summarized as follows:

(1) Obvious differences were recognized among the cultured fronds of above mentioned three habitats on the following items: the ratio of L_2/L_1, the relationship between N_1 and L_1, the number of wrinkle of sporophyll and the growth rate of frond.

(2) As to the comparision of the wild and cultured fronds at Toyohama and Ōno, only a few differences were recognized. They are namely, the ratio of W/L_1 and the length of frond at the time when the first wrinkle of sporophyll was formed, in the Toyohama-specimens, and the ratio of L_2/L_1 in the Ōno-specimens.

As to the difference between the frond of the first and second generation, it was not recognized in the fronds of Toyohama, but was imperceptively seen on the ratio of L_2/L_1 and the same of W_2/W_1 in those from Oginohama.

(3) Consequently, it was suggested that the shape of fronds at various habitats were distinguishable especially in such characters as follows: (a) the ratio of L_2/L_1, (b) the relationship between N_1 and L_1, (c) the length of frond at the time when the first wrinkle of sporophyll was formed, (d) the relationship between N_2 and L_1, (e) the number of wrinkle of sporophyll, (f) the growth rate of frond. Besides these marked characteristics were scarcely lost by the culture and also were reiterated for some, at least two, generations.

* 東京大学農学部附属水産実験所 (Fish. Lab. Fac. of Agric. Tokyo Univ., Aichi Pref.).

ワカメの分類上の問題については，古く宮部[3,4]，岡村[6,7,8]，遠藤[15]らの研究があるが，普通にはワカメは形態上からナンブワカメ *f. distans*，ワカメ *f. typica*，さらには，ナルトワカメ *f. narutensis* と2乃至3の型に分けられている。しかしながら，これらの2または3の型を分つ基準になる形態の特徴の変化範囲が明らかでない。また全国各地の沿岸に産するワカメをこれらの2乃至3の型に分類した場合，すでに遠藤・岡村らも指摘したごとく，ある形質はワカメ型であるが，ある形質はナンブワカメ型といつたように中間型，移行型ともすべきものが多く存在し，またこれらの型を持つ葉体の分布も地理的に限られておらず同一海域にも種々の型のものが存在している。筆者はワカメの形態の分類において，その特徴とする形質の変化範囲を数的に明らかにし，またこれら形質発現と環境との関係をも明らかにして，ワカメの形態の分類および分布について再検討を行なおうとして，1956年以来，全国各地のワカメについて調査を行つている。まず種苗の産地を異にするワカメを同一場所において養殖して，特徴とされる形質が如何に現われ，また如何に変化するかを調べ，かつ検討して来た。

最近，徳島水試加藤技師も宮城県荻ノ浜産のワカメの種苗を徳島県鳴門海域に移殖，養殖して，鳴門のワカメの養殖産および天然産のものと，形態その他について比較調査を行つているが*，ここには筆者の行つた研究によつて現在までに得られた結果について報告する。本文に入るに先立ち，終始御指導下さつた東大助教授新崎盛敏博士，種々御助言下さつた東海区水研須藤俊造博士，並びに実験に当り御協力下さつた宮城県石巻市荻ノ浜漁協辻隆三氏，愛知県豊浜町豊浜漁協の諸氏に深甚なる謝意を表する。

実験材料および方法

愛知県豊浜産のワカメについては1956年5月および1957年5月に天然産ワカメより游走子付けした種苗を，それぞれ秋より豊浜港内の筏に垂下し，養殖して得た葉体 (To–To–F_1, To–To–F_1') 並びにこのタネ付種苗から出たワカメ (To–To–F_1') の成熟体より，1958年5月に游走子付けした種苗をその年の秋から養殖して得た養殖第二代の葉体 (To–To–F_2')，また1959年1月～6月間に天然漁場より採集した天然産の葉体 (To–F) について調査した。

愛知県常滑市大野産のものについては 1957 年，1958 年の5月に天然産の成熟葉体 (On–F_0, On–F_0') およびこれらより游走子付けした種苗を，それぞれその年の秋より豊浜港内において養殖して得た葉体 (On–To–F_1, On–To–F_1') について調査した。

宮城県荻ノ浜産のものについては，1957 年 10 月にそれまで辻氏が胞子付けして室内の培養水槽にて培養し，その後，海中にて管理していたシュロ縄 (三子捩，径 3 mm 位) の種苗を海水を入れた広口魔法瓶に入れて，汽車輸送 (輸送中の水温約 17°C) によつて豊浜に移殖，養殖して得た葉体 (Og–To–F_1) およびこの養殖によつて1958年5月に得た成熟葉体よりの游走子を胞子付けした種苗を，その年の秋より養殖して得た葉体 (Og–To–F_2) について調査した。

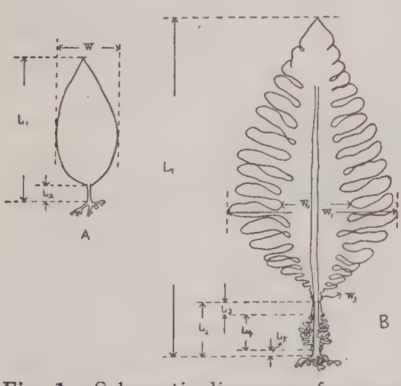


Fig. 1. Schematic diagrams of young (A) and mature (B) fronds of *Undaria pinnatifida*, showing the measured portions.

当地において培養，管理した豊浜産，大野産，荻ノ浜産第二代の種苗は，すべて毎年5月にカキ殻，またはクレモナ糸 (30 または 36 本，三子捩，樹脂加工) に游走子付けし，10月まで水族館の循環水を利用して室内水槽中で培養，管理し10 月下旬～11 月上旬に豊浜港内の筏に仮植し，芽胞体を生じたのを確めた後，垂下養殖に使用した。

計測に際して，幼葉では葉体長 (L_1，葉先端より最上位の根までの間)，茎長 (L_2)，葉幅 (W) を測定し (Fig. 1, A 参照)，成葉体では葉体長 (L_1)，茎長 (L_2，肉眼的最下位のくし

* 私信による。

葉状裂葉より最上位の根までの長さ)，栄養葉と成実葉との隔りの長さ (L_3)，成実葉長 (L_4)，成実葉と根との隔りの長さ (L_5)，葉幅(W_1，裂葉の最も長い部分)，欠刻の幅 (W_2，欠刻の最も浅い部分の幅)，茎幅 (W_3，最下位の裂葉を生じている部位の茎の幅) などを測定し，葉片数 (N_1，片側のみ)，成実葉数 (N_2，片側のみ，襞一つを1とした) をも調査した (Fig. 1，B 参照)。養殖期間中の豊浜港における水温は Fig. 2 のごとくであつた (旬平均，満潮時観測)。

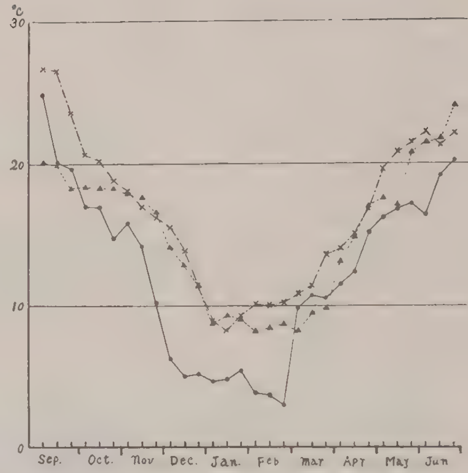


Fig. 2. Water temperature in each decade at Toyohama harbor Aichi Pref.
●——● Sep. 1956~Jun. 1957.
▲····▲ Sep. 1957~Jun. 1958.
× -·- × Sep. 1958~Jun. 1959.

結　　果

幼葉について　卵から出た芽胞体は当初は茎，葉の分化がないが，大きく成長すると茎と葉部の分化が起る。幼葉は茎を有し，先端の尖つた披針形乃至卵円形をなしている。この時期のものの茎長と葉体長との比 L_2/L_1，葉幅と葉体長との比 W/L_1 を Table 1 に示した。各産地別について同一年次のもので比較してみると，荻ノ浜産と豊浜産 (1957~8) の間にのみ有意の差 ($\alpha=0.05‰$) が認められた。すなわち荻ノ浜産の第一代は，その年の豊浜産第一代より葉体長に比して茎が長いということができる。また大野産と豊浜産 (1958~9) とでは有意の差は認められなかつたが，大野産の方が葉体長に比して茎の長いものが多かつた。さらに同一種の第一代と第二代との間には有意の差は認められなかつた。葉幅と葉体長の比では，豊浜産のもので養殖産と天然産とで有意の差が認められた。すなわち天然産が養殖産より幅広いといい得る。他では産地別，年次別，養殖代別ともに差は認められなかつた。

つぎにワカメの幼葉は単葉のままある時期まで全縁成長し，葉体がある大きさになると茎の上部の間に成長帯が移つて，盛んに成長するようになる。この時期に茎の成長帯部の両側にくし葉状の裂葉を生じ，また葉部には中肋を生じ始める。このくし葉状裂葉の生ずる時期の葉体長と裂葉数 ($N_1<10$) の関係は，Fig. 3 のごとくであつた。図に示すごとく，この関係はそれぞれ，大体直線関係を示し，いずれも葉体の成長に比例して裂葉の数が増えている。ただし，その間の数的関係はそれぞれ異つている。豊浜産では天然産の方が養殖産より葉体長の小さいうちにくし葉状裂葉を生ずるようであり，また体長に比して裂葉数が多く，産地別では荻ノ浜産および大野産のものが豊浜産に比して葉体長が大きくなつてからくし葉状裂葉を生ずるようであつた。しかし大体は葉体長 6~10 cm 間にくし葉状裂葉を生じ始めるようであるが，L_2/L_1 の大きいも

Table 1. The mean values of the ratios of stipe length to frond length (L_2/L_1) and of frond width to frond length (W/L_1). (young frond)

	To To–F_1 1956~7	To- To–F_1' 1957~8	To- To–F_2' 1958~9	To-F 1959	On F_0 1957	On- To–F_1 1957~8	On–F_0' 1958	On- To–F_1' 1958~9	Og– To–F_1 1957~8	Og- To–F_2 1958~9
$\frac{L_2}{L_1}$	0.13 ±0.06	0.08 ±0.01	0.06 ±0.01	0.06 ±0.04	—	—	—	0.25 ±0.82	0.12 ±0.03	0.08 ±0.03
$\frac{W}{L_1}$	0.35 ±0.12	0.46 ±0.06	0.56 ±0.04	0.62 ±0.02	—	—	—	0.44 ±0.05	0.56 ±0.10	0.46 ±0.16
N	17	16	2	5				6	11	3

To: Toyohama Aichi Pref., On: Ōno Aichi Pref., Og: Oginohama Miyagi Pref., F: Spontaneous frond, F_0: Parents (spontaneous frond), F_1: 1st generation, F_2: 2nd generation.
N: Number of samples.

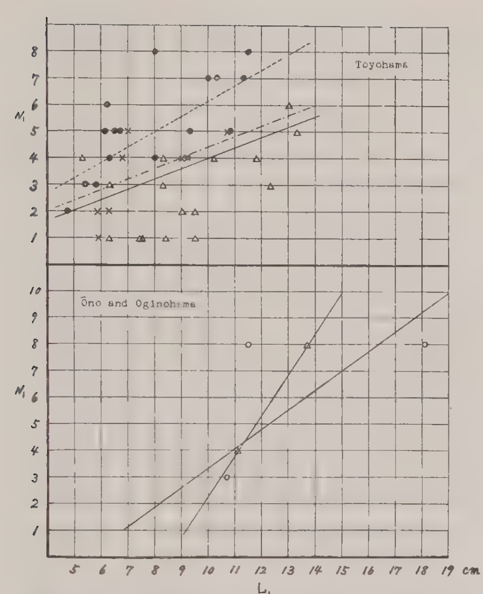


Fig. 3. Diagrams showing the relationship between number of comb-teeth liked leaflets and frond length. ($N_1 < 10$)
Toyohama;
○-·- 1956～57, To–To–F_1
△—— 1957～58, To–To–F_1'
×--- 1958～59, To–To–F_2'
●···· 1959, To–F
Ōno and Oginohama
△—— 1958～59, On–To–F_1'
○—— 1957～58, Og–To–F_1

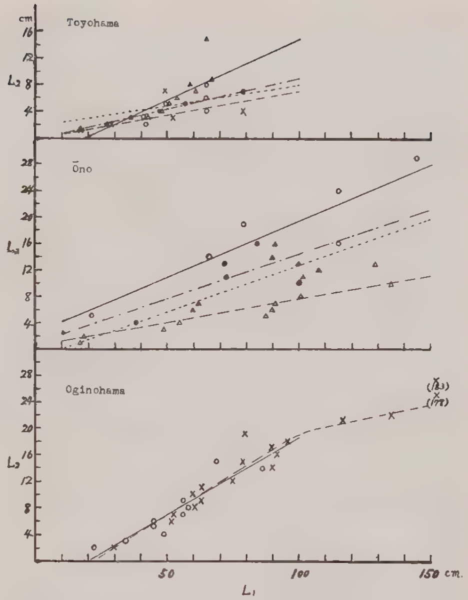


Fig. 4. Diagrams showing the relationship between stipe length and frond length. ($L_1 > 10$ cm, shows mean value of frond length on the same stipe length.)
Toyohama; ○-·- To–To–F_1, △—— To–To–F_1', ×--- To–To–F_2', ●···· To–F.
Ōno; ●-·- On–F_0, ○—— On–To–F_1, ▲···· On–F_0', △--- On–To–F_1'.
Oginohama; ○—— Og–To–F_1, ×--- Og–To–F_2.

の程，くし葉状裂葉を生ずるのがおそい傾向がみられた。

成葉体（成熟葉体も含む）について　ワカメは茎と葉との移行部を成長帯として伸長する。そしてこの附近の茎部の両側にくし葉状裂葉をつぎつぎと生ずるとともに，それぞれが大きく伸長し，ワカメの成葉体となる。葉体長 10cm 以上のものについて葉体長に対する茎長の比 (L_2/L_1) と葉体長と茎長との関係 (L_1-L_2) は Table 2, Fig. 4 のようであつた。Fig. 4 に示すごとく，L_1-L_2 の関係は荻ノ浜産のもので葉体

Table 2. The mean values of the ratios of stipe length to frond length (L_2/L_1) and of width of main blade extending both sides of midrib to width of the widest portion of the frond (W_2/W_1).
(adult frond, L_2/L_1: $L_1 \geqq 10$ cm, W_2/W_1: $L_1 \geqq 20$ cm)

	To–To–F_1	To–To–F_1'	To–To–F_2'	To–F	On–F_0	On–To–F_1	On–F_0'	On–To–F_1'	Og–To–F_1	Og–To–F_2
$\frac{L_2}{L_1}$	0.08 ±0.02	0.09 ±0.01	0.08 ±0.04	0.07 ±0.01	0.14 ±0.04	0.20 ±0.05	0.12 ±0.04	0.08 ±0.04	0.12 ±0.01	0.16 ±0.01
N	17	65	7	141	5	6	7	30	24	36
$\frac{W_2}{W_1}$	0.36 ±0.05	0.31 ±0.04	0.41 ±0.25	0.33 ±0.02	0.37 ±0.04	0.34 ±0.07	0.39 ±0.06	0.33 ±0.05	0.31 ±0.03	0.24 ±0.03
N	44	106	6	112	5	11	7	44	54	37

長 1m 以上伸長したものは葉体長に比して茎長がやや短い傾向が見られたが，他は大体，直線関係を示した。この比の平均値については産地別間では，幼葉の場合に見られたと同じく豊浜産に比して大野産 (1957)，荻ノ浜産がやや大きく，すなわち後者らの方が葉体長に比して茎長の長いことを示した。

同一原産地内では豊浜産は天然体，養殖体の別，養殖代別の間に差は見られない。大野産では 1958〜9 年の養殖体の方が，それぞれ前年のものに比してやや小さい値を示しており，また荻ノ浜産では養殖第一代 (1957〜8 年) より第二代 (1958〜9 年) の方がやや大きい値を示した。

つぎに葉体長 10 cm 以上のものについて，葉体長と葉片数との関係を図示すると Fig. 5 のごとくであつた。原産地別間を比較すると大野産，荻ノ浜産は豊浜産に比して葉体長に対する葉片数が少い傾向が見られた。また同一原産地内では天然，養殖の別，年次別，養殖代別の間にいずれも差は見出し難かつた。

また葉体長 20 cm 以上のものの欠刻の深さを表わす比の平均値を Table 2 に示した。欠刻の深さを表わす割合 (W_2/W_1) については，産地別間では 1957〜8 年の養殖体では豊浜産，大野産，荻ノ浜産の間に差は見出し難く，1958〜9 年の養殖体，天然体の別，および養殖代別では，豊浜産ではいずれにおいても差は認められず，大野産でも天然体(採苗原藻とした天然産)と養殖体との間に差はなかつたが，荻ノ浜産では養殖第一代と第二代との間に有意の差が認められた。

養殖による各原産地別のワカメの成長度を同一水深 (1.5〜2.0 m) で養殖したものの中，生育良好の大型葉体群の平均体長で示すと Fig. 6 のごとくであつた。図は 1958〜9 年の養殖の結果であるが，1957〜8 年と 1958〜9 年の養殖結果では，いずれも

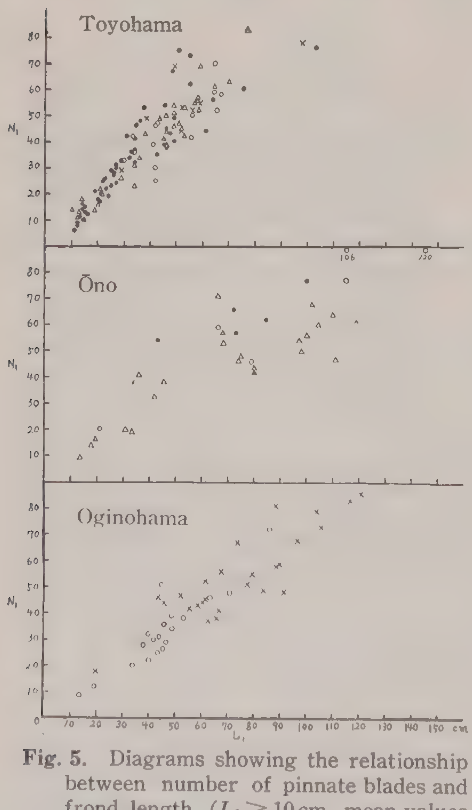


Fig. 5. Diagrams showing the relationship between number of pinnate blades and frond length. ($L_1 \geqq 10$ cm, mean values of length of the frond which have same number of pinnate blades.)
Toyohama; ○To–To–F_1, △To–To–F_1', × To–To–F_2', ● To–F.
Ōno; ● On–F_2, ○On–To–F_1, ▲ On–F', △ On–To–F_1'.
Oginohama; ○ Og–To–F_1, × Og–To–F_2.

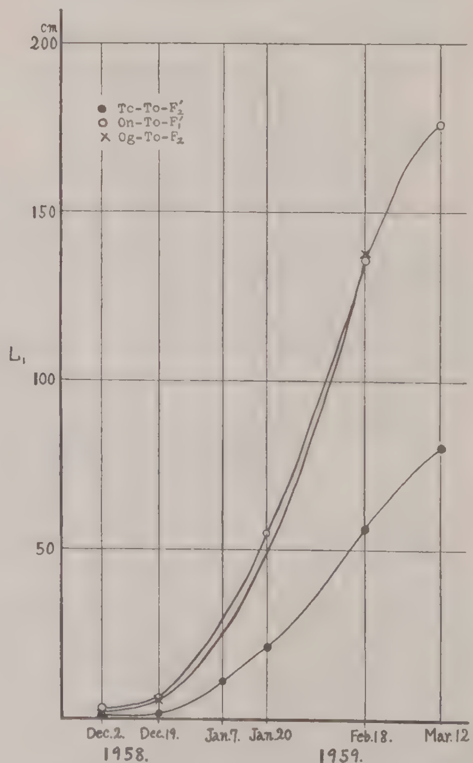


Fig. 6. A diagram showing the growth of frond length. (1958〜59)

大野産，荻ノ浜産が豊浜産に比して成長が早かつた。また Fig. 4, 5, 7 からも明らかなごとく，豊浜産の成長限度は大体 1m 以下で，1m を越えるものは少なかつたが，大野産，荻ノ浜産のものは 1m 以上が多く，一般に前者に比して後者らは大きく成長した。

成熟葉体について　ワカメはある程度成長すると茎の下部に成実葉を形成し始める。成実葉数(襞の数)と葉体長との関係は Fig. 7 のごとくであつて，豊浜産は天然体葉体長 15～30 cm 位，養殖体 30～50cm 位，大野産は天然体 40～60 cm 位，養殖体 40～60 cm 位，荻ノ浜産は養殖第一代，第二代ともに40～60 cm 位の時から成実葉が形成され始めた。このように原産地別で成実葉を形成し始める葉体長に差があり，豊浜産，荻ノ浜産，大野産の順序で葉体長の小さい時期から成実葉を形成し始めた。また天然体と養殖体との間では豊浜産および大野産とにおいて差が見られ，いずれも天然体の方が小さい葉体長の時期から成実葉を形成し始めた。

また成熟して游走子を放出するようになつた時期の成実葉数は，豊浜産では 1～4，大野産では 4～7 以上，荻ノ浜産 3～11 で，成熟期における成実葉数は豊浜産は 4 以上になることはほとんどなかつたが，大野産，荻ノ浜産は 5 以上のものが多く，10 以上にもなり，前者より後者らの方が成実葉数は多かつた。

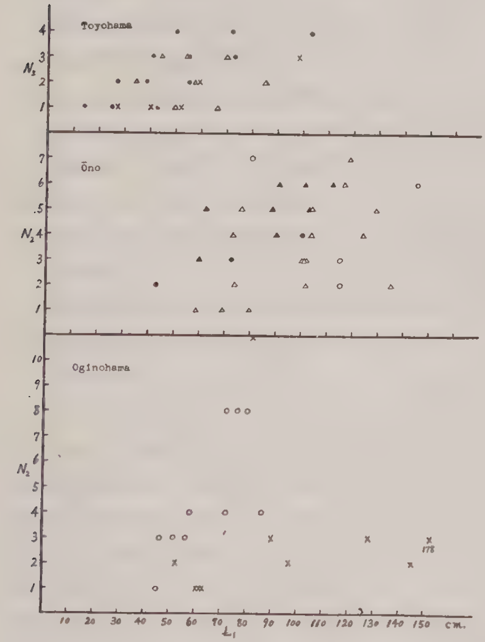


Fig. 7. Diagrams showing the relationship between number of wrinkle of sporophyll and frond length. (mean, max. and min. values of length of the fronds which have same number of wrinkle of sporophyll.)
Toyohama; ○ To–To–F_1, △ To–To–F_1', × To–To–F_2', ● To–F.
Ōno; ● On–F_0, ○ On–To–F_1, ▲ On–F_0', △ On–To–F_1'.
Oginohama; ○ Og–To–F_1, × Og–To–F_2.

成実葉の形態も原産地別で異つていて，豊浜産では天然体，養殖体ともに成実葉はうすく広く，両側から生じた襞は重なり合つて，中肋は掩われていた (Fig. 8, A)。また縁には二次的な襞を生じており，またいわゆる中性葉を生ずることが多かつた。

大野産では成実葉は厚く，ややせまく，両側からの襞の端は接するか，またははなれていて，中肋が完全に掩われることはなかつた (Fig. 8, B. C)。また縁には二次的な襞を生じていたが，中性葉を生ずることはなかつた。

荻の浜産は成実葉はやや厚く，ややせまく，両側からの襞の端はほとんど接している。縁には二次的な襞を生ずること少く，特に下部のものにはほとんど二次的な襞はない (Fig. 8, B)。

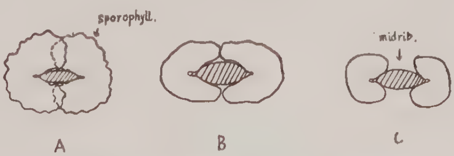


Fig. 8. Schematic views of various shapes of sporophyll-part in horizontal section.

成実葉数 (N_2) と成実葉と栄養葉との隔り (L_3) との間には明らかな関係は認め難いが，N_2－L_3/L_1 間には Fig. 9 に示すごとく，やや不明確ながら成実葉数が増加するにしたがつて L_3/L_1 の値は減少する傾向が認められた。

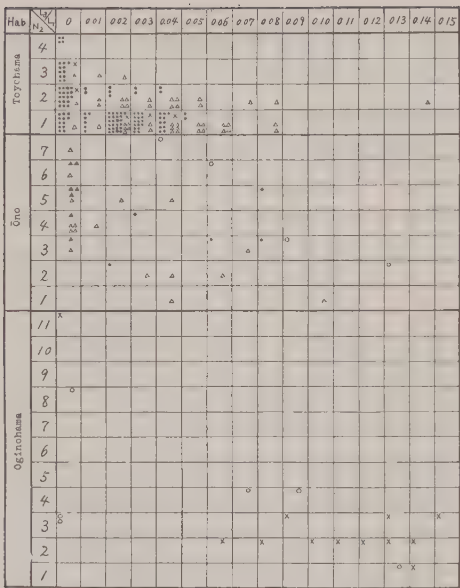


Fig. 9. Diagrams showing the relationship between the values of the ratio L_3/L_1 and number of wrinkle of sporophyll.
Toyohama; ○ To–To–F_1, △ To–To–F_1', × To–To–F_2', ● To–F.
Ōno; ● On–F_0, ○ On–To–F_1, ▲ Oo–F_0', △ On–To–F_1'.
Oginohama; ○ Og–To–F_1, × Og–To–F_2.

総括並びに考察

今回の実験においては，養殖水深の深浅，採集時期などを区別せず，年度毎にその年の 11 月から翌年の 6 月までに採集し得た葉体を一括して，原産地別を主眼としてワカメ葉形を比較し，また測定した値のうち L_1, L_2, L_3, W_1, W_2, N_1, N_2 のみを用いて形態を比較してみた。この場合，同一環境で養殖してもワカメの形態は種々異つていた。原産地別については大野産，荻ノ浜産と豊浜産とにおいて，幼葉期，成葉期ともに葉体長に対する茎長の比 (L_2/L_1) において前者らが大きく，葉長に対して茎が長い傾向が見られる。しかしさらに詳しくみると，豊浜産と大野産では 1957～8 年の養殖体では差があるが，1958～9 年の養殖体では差が認められない。これは採苗原藻が同じ大野産であるとはいえ，現地が伊勢湾奥部の複雑な環境条件のもとにあるため，原藻自体，1957 年のものと，1958 年のものとに差があつたためではないだろうか。また成葉期における裂葉数と葉体長との関係 (L_1/N_1) も異り，豊浜産の方が大野産，荻ノ浜産より同一葉体長において裂葉数が多いことが認められた。さらに成実葉数は大野産，荻ノ浜産では数が多いが，豊浜産は数が少く，またその形態も異つていた。成実葉の形態については黒木ら[3] が，松島湾産のワカメ（*f. typica* に属するという）を女川湾で養殖し，成実葉の形態はそれが形成される時期によつて異り，**broad type, distant type, long type, small type** と分けられると報告しているが，これは成実葉の長さと幅の比，および大きさをみての分け方であり，成実葉数が示されておらないので，著者の結果と比較することはできないが，著者の結果では茎長の比較的長い大野産，荻ノ浜産では，黒木らの示した結果のような形態の変異が多少認められたが，豊浜産では成実葉の大きさに大小の差はあつても幅広く，うすく，縁に二次的な襞を生じ，その数は 4 をこえないなど形態の変異は少く，全く特徴的であつた。また栄養葉と成実葉との隔りについては，従来ワカメの form を分ける上の重要な特徴とされていたが，この間隔を示す範囲について明確な記述が行われていなかつた。著者の示したごとき栄養葉と成実葉との間隔の葉体長に対する比 (L_3/L_1) は茎の長い大野産，荻ノ浜産で，その値が大きい傾向はあるが，成実葉数が増加して成熟するにしたがつてその値は小さくなる傾向があり，成実葉が形成されつつあるか，形成が完了したかによつて，また環境条件などに影響されて形成が止まるなど，時期によつてもこの値には相違があるようで，この形質を形態分類の特徴とすることは困難であるように思えた。また裂葉の欠刻の割合は各原産地のものが，いずれも値が近く，また変異も大きく，年度によつて原産地別に差が認められたり，認められなかつたりして，その差は明らかでなく，環境による変化がうかがわれる。

さらに天然体（あるいは採苗原藻とした天然産）と養殖体ワカメの形態の比較は，豊浜産と大野とについて行つたが，豊浜産では幼葉期に，葉体長に対する葉幅の比の値において天然体が養殖体に比して大きく，成葉期においては，天然体の方が養殖体より成実葉を形成し始めるときの葉体長が小さいという相違が見られた。また大野産では成葉期において 1957～8 年の養殖体が原藻に比して茎長の葉体長に対する比が大きくなつたが，1958～9 年の養殖では，この差が見られなかつた。このように多少の変化は見られるが，豊浜産

の幼葉期および成熟期の相違は，それぞれ天然体と養殖体の採集時期の相違が影響しているものと考えられ，（幼葉の採集期は天然体のものは 1959 年の 1～3 月であり，養殖体は主として毎年度 11～1 月であり，成実葉を形成した葉体は天然体では 3～5 月が多く，養殖体では 1～3 月が多い）。また大野産でも変化はあつても，茎長が葉体長に比して長いという傾向が増加したのみで（1957～8 年），両産地のものとも，その他の形質には変化がなく，それぞれ特徴的な形態を示した。

養殖第一代と第二代との比較では，豊浜産ではすべての形質において変化がなく，荻ノ浜産では第二代が第一代に比して茎長の葉体長に対する比（L_2/L_1）が大きく，欠刻の割合を示す比（W_2/W_1）は小さく，またその他の形質（N_1-L_1，N_2-L_1，成実葉の数，形態など）でも僅かながら差が見られたが，荻ノ浜より移植した種苗は原産地が明らかでなく，宮城県鮎川附近産の原藻，および荻ノ浜附近産の原藻より採苗したものや，またそれらがすでに数代養殖されて混合したものなど，種苗自体に種々の形態のものが混じつていたと考えられ，また第二代は第一代の葉体のすべてを採苗原藻としたのではなく，特に，L_2/L_1 が大きく，W_2/W_1が小さく，成実葉数の多いものをえらんで原藻としたためにこのような結果になつたとも考えられ，これだけでは養殖代数を重ねることによつて形態が変化すると考える根拠とはならないと思う。

結局，ワカメの形態上の特徴を種々の測定値およびそれらの間の相互関係において見ると，茎長の葉体長に対する比（L_2/L_1），葉片数と葉体長との関係（L_1-N_1），成実葉を形成し始めるときの葉体長，成実葉数と葉体長との関係（N_2-L_1），成実葉の数（N_2）と形態，および葉体長の伸長限度などにおいて特徴は明らかであり，欠刻を示す割合（W_2/W_1），成実葉と栄養葉との間隔では余り特徴的ではない。

以上のような測定，比較の結果のみでは全国産のワカメをいくつかの型に分類するための基準となる特徴的な形質を知るには不充分であるが，天然産ワカメを原藻として採苗したものを養殖した場合，養殖することによつて形態は多少変化することはあつても，原藻の特徴を失うことは少く，また養殖代数を重ねても，養殖場所の環境によつて形態が変化して，養殖場所の原産のワカメに形態が似て来ることはないようであるといい得るのではないだろうか。しかしながら環境条件のワカメの形態におよぼす影響も全然否定し去る訳には行かないので，今後，形態の明らかな原藻より採苗した種苗を環境条件の異る各地に移植して，この点の究明を行いたい。

要　　約

ワカメの形態を区別する特徴をどこに求めたらよいかを知るため，つぎのごとき各種のワカメについて，幼葉では葉体長（L_1），茎長（L_2），葉幅（W）を，成葉体では葉体長（L_1），茎長（L_2），栄養葉と成実葉との隔り（L_3），成実葉長（L_4），成実葉と根との隔り（L_5），葉幅（W_1），欠刻の幅（W_2），茎幅（W_3），葉片数（N_1），成実葉数（N_2）を測定し（Fig. 1），これらの測定値，およびその間の相互関係を比較して，つぎのごとき結果を得た。

1）愛知県知多半島，豊浜町，常滑市大野町および宮城県石巻市荻ノ浜と原産地を異にするワカメより採苗したものを愛知県豊浜港内において養殖し，その結果を原産地の違いによつて比較したが，豊浜産，大野産，荻ノ浜産で，幼葉期および成葉期の葉体長に対する茎長の比，裂葉数と葉体長との関係，成実葉数およびその形態などに差が見られた。

2）豊浜産，大野産で天然体と養殖体とを比較したが，豊浜産では幼葉期の葉体長に対する葉幅の比，成実葉の形成され始めるときの葉体長で，大野産では成葉期の茎長の葉体長に対する比（1957～8 年）に差がみられたが，その他の形質には差がなく，多少の変化はあつても，その形態の特徴は余り変化しなかつた。

3）豊浜産，荻ノ浜産で養殖ワカメより採苗して養殖第二代を作り，養殖世代による変化を比較したが，豊浜産では全く差がなく，荻ノ浜産では成葉期の茎長の葉体長に対する比，欠刻の程度を示す比，およびその他の形質に変化が見られた。

4）ワカメの形態は茎長の葉体長に対する比，葉片数と葉体長との関係，成実葉を形成し始めるときの葉体長，成実葉数と葉体長との関係，成実葉の数および形態，および葉体長の伸長限度などにおいて特徴は明

らかで，これらの比較から，ワカメの形態は養殖しても原藻の形態から変化することは少く，また養殖世代を重ねても変化は少く，それぞれ特徴的な形態をしていると考えられた。

文　　献

1) FRITSCH, F. E.: The Structure and Reproduction of the Algae. Vol. **II**, (1952).
2) 黒木宗尚・秋山和夫: 東北海区水研，研究報告，第 10 号，(1957).
3) 宮部金吾: 北海道水産調査報告，巻之三，昆布採取業，(1902).
4) MIYABE, K.: On the Laminariaceae of Hokkaido, *Journ. Sappro Agri. Coll.*, **1**, (1952).
5) 宮崎県沿岸漁業指導所: 同指導所試験調査報告，第 14 号，(1959).
6) 岡村金太郎: 日本藻類名彙 (I)，(1902).
7) ――――: 日本海藻誌，(1936).
8) ――――: ワカメ属およびその種類について，水産学会報 **1**, (2), (1915).
9) OKAMURA, K.: Undaria and its Species, *Bot. Mag. Tokyo*, **29** (346), (1914).
10) 遠藤吉三郎: 海産植物学，(1913).

ビワ湖産フナの形態学的研究—I.

友 田 淑 郎

(1959 年 12 月 17 日受理)

MORPHOLOGICAL STUDIES ON THE CRUSSIAN CARP IN LAKE BIWA—I.

Yoshio TOMODA*

As is the case in Europe, there are different opinions concerning to the identification of forms in the crussian carp of Japanese water.

It is said that there are three forms of crussian carp in Lake Biwa, which bear native names of Hiwara, Nigoro and Gengoro-Funa respectively:

I have selected specimens typical of each form and studied their external and internal structures with reference to their special mode of life. Thus, it is revealed that, these forms are distinct from each other, having characteristics as follows:

Gengoro-Funa has a large opening of mouth, its gill-rakers are not only excess in number, but complicated in structures. Hiwara has thick lips and much developed pharyngeals, while its mandible remains feeble. Nigoro possesses rather well developed gill-rakers; its mandible is large comparing to its head size, while its pharyngeals develop weakly.

In addition to these characteristics, Gengoro-Funa and Nigoro provide well developed air-bladder and pneumatic bulb, which are feeble in Hiwara.

ま え が き

比較形態学的研究の進歩により，今日ではフナの多様性について多くの意見が述べられるようになつた。ビワ湖産フナが多様であることは，その生態とともに，従来滋賀県の水産関係者[1),2)]に注目されて来た。1949 年，岡田・中村[3)]は，ゲンゴロウブナ，ヒワラ，ニゴロとそれぞれ称せられる三型のフナについて形態を比較し，体高，尾柄高，鰓耙，尾びれ条長などに特徴を認めた。さらに生態にも検討を加えた結果，ビワ湖産フナには三型が区別されるとこの報告は述べている。

私は，ビワ湖産フナの諸型について，従来より注目されて来たそれらのフナの生態的差異に基礎をおいて形態学的比較を試みた。なお，以下の研究を進めるに当つて，多くの人々の援助を受けているので，ここで一々謝辞を述べないが，深く感謝していることを書きとどめる。

鑑別に当つて

刺網，筌，魞で漁獲された漁獲物の中から，漁業者に，ゲンゴロウブナ，ヒワラ，ニゴロの，なるべく大形の成魚を選んでもらい，これに，一群の小形魚**を加え，ホルマリン漬標本とした後，計測を行つた。

まず，従来重視されて来た体高/体長および，鰓耙数をそれぞれ二軸にとつて二次展開すると，およそ三群に分れる (Fig. 1)。すなわち，図中 + 印のものを除くと，A群・B群・C群は，それぞれ，漁業者のいわゆるゲンゴロウブナ，ヒワラ，ニゴロに相当するので，ここでは更めて，Fig. 1 により，A群・B群・

* 京大理学部動物学教室 (Zool. Inst., Univ. Kyoto).

** ゲンゴロウブナは 15 cm 以上，他のフナは 10 cm 以上の体長のものに制限した。このようにすれば，形態および生態的変化の著しい幼魚段階以下のものが含まれないことになる。

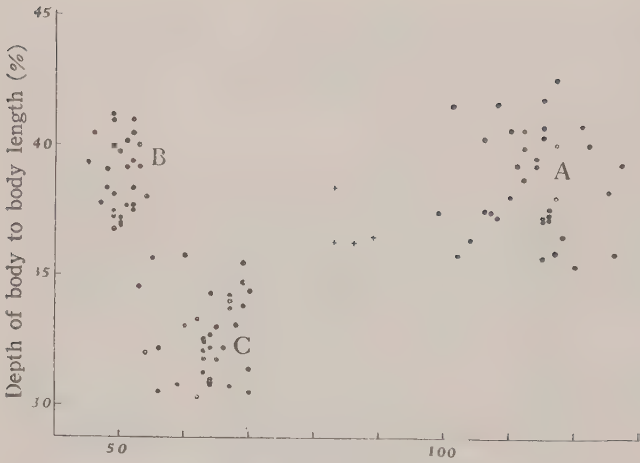


Fig. 1. Discrimination of specimens.

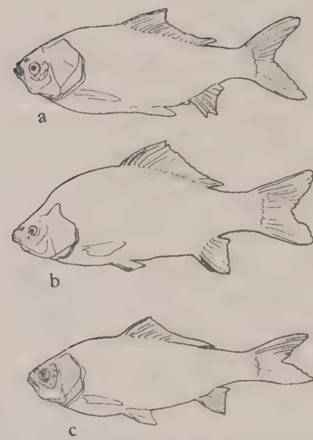


Fig. 2. Three main forms of crussian carp.
a: Gengoro-Funa.
b: Hiwara. c: Nigoro.

C群を，ゲンゴロウブナ，ヒワラ，ニゴロとして話をすすめる。ただし，C群中にはガンゾ*という一型が混在し，詳細な検討を加えれば，ニゴロと同一視することはできないので，以下の記述においては，C群中の



Fig. 3. Food taking organs. a∼b: Anterial and ventral views of mouth c: Upper pharyngeal teeth, and pharyngeal bone d: First gill arch, e: Minute structures of rake teeth f: Teeth series viewed on its grinding surface and laterally dark colored part shows enamel on grinding surface. a_1∼f_1: Gengoro-Funa, a_2∼f_2: Hiwara, a_3∼f_3: Nigoro.

* ガンゾという名称は，漁業者が二様に用いる。その一つは，商品として価値の低い小形のフナの通称であり，他は小さいながら成熟する一型を指す。しかし，後者の場合，漁業者はニゴロと明瞭に区別できない。Fig. 1 のような方法では，C群中に後者の意味のガンゾが含まれている。なお，Fig. 1 のA群，B群中にも，外見上やや判断に迷う個体が少数ながら見出される。ただし，本論文は鑑別が主目的ではないので，以下の記述では，多獲されている典型的なものについて述べ，詳細は別の機会に譲りたい。

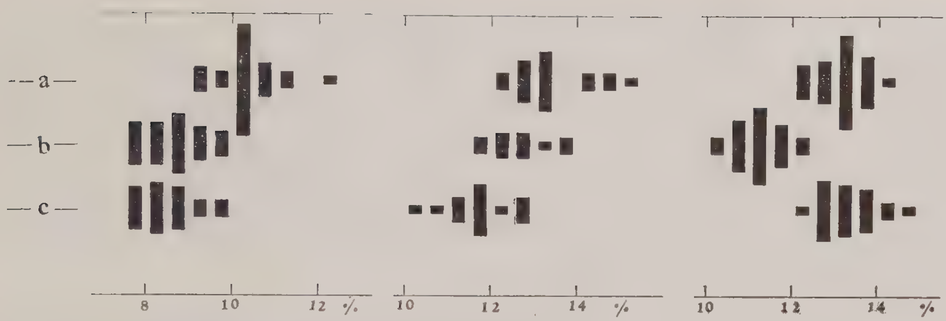


Fig. 4. Sizes of several food taking organs compared to body length. Left to right: Width of gape, length of pharyngeal bone, length of mandible respectively. a: Gengoro-Funa, b: Hiwara, c: Nigoro.

典型的なニゴロに限つて扱うこととする。

従来の研究[1),2),3)] および，漁業者の経験にしたがえば，ゲンゴロウブナ，ヒワラ，ニゴロの生態は，およそつぎのように要約される。

ゲンゴロウブナ：湖の沖合にすみ，主として中層を群游する。食物は大部分植物質であるが，その内容は沈でん物か，あるいは底性植物か，確かでない[1)]。私の稚魚についての観察では，緑色プランクトンを好むことが判つたが，沈でん物も摂る。

ヒワラ：内湖，溜池，沿岸部の遠浅の部分に限つてすむ。底層性で，行動は敏活であり，中村[3)] によれば，主として底棲動物を摂るという。

ニゴロ：湖の深みにすむ。水温の高くない7月初旬までは，逐次，やや浅所へ移動して餌ばみし，時に2週間もそこに停るが，産卵を終れば深みに帰るという。底層を単独でゆつくり游泳する。食性は，稲並[1)] によれば，雑食性であつて，季節によつて異るが動物プランクトンと底性沈でん物が週年にわたつて摂られている。

形態の比較

三つの型のフナの生態，とくにその食性と住み場所に注目して形態の比較を行つた結果，摂餌器官および鰓にかなり特徴が見出されたので，以下，それぞれのフナについて検討を加えてみた。

I. 摂餌器官

1) ゲンゴロウブナ：口を充分に開いて正面から観察すると，大きい開口断面積を有するので (Fig. 3・a_1)，仮にその口裂の幅を測定してみた (Fig. 4)。また，従来このフナは鰓耙数の多いことがとくに注目されているので (Fig. 1)，第一鰓弧の前列の鰓耙を拡大して観察すると，多数の分岐を備えているのが見られるが，それらに生じた細分枝表面は，個体差が多い (Fig. 3・e_1)。また，鰓耙の発達と関連して，頭長あるいは鰓蓋部の発達，鰓蓋挙筋の発達などが注目される。他方，咽頭骨についてみると，その形状は一般に薄く平たくて，とくに，CHU[4)] のいう anterior edentulous process の内側に当る両咽頭骨の結合部付近は薄膜状に拡大しているものが普通である (Fig. 3・c_1 ↓ 部)。咽頭歯は，第 I ～IV 歯にわたつて，それぞれの咀しやく面がほぼ同一平面上に磨滅*していて，全体として，広く大きい一枚の連合咀しやく面をなすのが観察され，各歯について見れば，ほうろう質が，歯質に比して薄いのが注目される (Fig. 3・f_1)。

2) ニゴロ：このフナには，一見してはなはだ顎の張つた個体が多いが，これは頭部の大きさに比較して下顎が発達しているためであり，この傾向は老成と共に進行する。鰓耙は，ゲンゴロウブナにはおよばない

* 筆者は，アリザリン・レッドを用いて咽頭歯を染色し，研磨を加えずに観察した。咀しやく面が歯面の正面を占める面積比および，咀しやく面全体の形状，咽頭歯の高さなどに現われた個体差等からおして，咽頭歯は，更新までにかなり磨滅するものと推定した。

が，よく発達しており，拡大して観察すると，各鰓耙は多数の分岐を有し，その細分枝はゲンゴロウブナのものに比較するとやや疎大である (Fig. 3・d_3, e_3)。つぎに咽頭骨を概観すると，体長に比べてその長さは小さいが，厚さはやや厚いものが多い。咽頭歯は全体にわたつて発達せず，さらに注目すべきは，多くの個体において，その咀しやく面は磨滅が進んでいないのが観察された。歯列を見ると，第 Ⅲ, Ⅳ 歯の正面観はやや直線的であり，側面観では第 Ⅱ～Ⅳ 歯の咀しやく面はそれぞれの歯がそれらの共有切平面 (Fig. 3・f では直線で示す) に対してかなり傾いており，第 I 歯は頂部がこの共有切平面に達せず，多数の個体では第 I 歯が磨滅を受けていないのが観察された。このような歯列構成の結果，歯列の正面観では狭域に歯列が集合しており，側面観では各歯が尖端を形成している。一方，各歯についてみると，咀しやく面にはゲンゴロウブナに比して発達したほうろう質が観察された。

3) ヒワラ： このフナは，一見して吻の突出した頭部を有する。すなわち，頭部は上面観でも側面観でも，前方に向つて尖つている。また，吻を前面あるいは下面より観察すれば，このフナは小さい口に比して厚い唇を有することがわかる (Fig. 3・a_2 & b_2)。一方，下顎はむしろ発達していない (Fig. 4)。また，このフナの鰓耙数が少い (Fig. 1) ことは，すでに中村の注目をひいているが，個々の鰓耙の間隙は他のフナのものに比較して粗であり (Fig. 3・d_2)，このことは拡大して観察すれば一そう明らかである。すなわち，もつとも発達した第一鰓弧の前列においてさえ，その長さは短く，分岐は萠芽的であつて，ハナヤサイ状顆粒に被われ (Fig. 3・e_2)，鰓耙の機能は，ゲンゴロウブナおよびニゴロと異ることが推察される。他方，咽頭骨をみると，その大きさはかなり大きいが (Fig. 4)，体長に比較した咽頭骨の長さではゲンゴロウブナにおよばない。むしろこのフナの咽頭骨の特徴は，立体的で頑丈なその構造にある (Fig. 3・c_2)。すなわち，その幅は広く，肥厚しており，CHU[4] のいうところの pitted surface には支持構造が発達し，大きい力に堪えることが推察される。つぎに咽頭歯群が咽頭骨全体の中央部に広い面積を占有しているのも特徴的で，他のフナの咽頭歯群が咽頭骨の中央より後方に狭く集まつて位置するのと対蹠的である。第 Ⅱ～Ⅳ 咽頭歯の咀しやく面は，それらの共有切平面とそれぞれやや傾いている。その中で，第 Ⅲ，Ⅳ 歯の正面像は彎曲しているものが多く，とくに第 Ⅳ 歯ではその前縁が凸，後縁が凹型を示している。また，歯の正面から見た長さは咽頭骨の長さに比して長いばかりか，そのほうろう質は，咀しやく面の大きい部分を占めている (Fig. 3・f_2)。観察したすべての標本で，第 I ～Ⅳ 歯のすべてにわたつて咀しやく面がよく磨滅しており，さらに若干の個体では，はなはだしい磨滅が認められた。以上でこのフナの歯列が発達していることは充分明かとなつたが，さらに各咽頭歯はとくに強固に咽頭骨に固着しており，他方，上咽頭歯も大型でかつ肥厚しており，その表面には深い刻印が走つている Fig. 3・c_2)。このフナの咽頭骨，咽頭歯の発達に関連して，その付属筋のよく発達しているのは興味深い。

II. うきぶくろ

1) ゲンゴロウブナ： このフナの鰾，とくにその成魚のものは前房の膨大したものが多い。鰾の外皮を除いて観察すると，前房，後房ともにやや透明であり，さらに詳しく観察すれば，前房ではその上前面がとくに薄く，下面には筋がよく発達していて対蹠的に厚い。後房には，その前部に広くわたつて，内面に隆起条が縦走するのがよく透視できるが，側面および下面には筋が広く発達して肥厚している。両房を結合する連結気道*は太い。他方，食道に通じる気道も太いが，その前半は個体によつて細くなつているものが多い。気道が消化管と接するところに存在する気道斤**は発達しており，その外見は白色で，形状はやや側偏して後方に向つて細まつている。

2) ニゴロ： このフナの鰾は，ゲンゴロウブナに比べて前房，後房ともに細長いものが見出される。すなわち，老成魚を除いては，前房はいく分幅が狭く，他方，後房は個体により一概にはいえないが，延長したものが多い。また，ゲンゴロウブナに比べて一そう鰾が肥厚していて，老成魚では全く不透明である。さらに詳しく観察すれば，前房の上前面はゲンゴロウブナのように明りようには薄くならず，他方，後房には側

---

* Ductus communicans――EVANS[5], H. M. (1925)

** Pneumatic bulb――EVANS and DAMANT[6]. (1929)

面筋がよく発達し，その厚い筋束は後房の末端におよんでいて，この部分で壁が甚だしく肥厚したものが普通である。後房前部上方の内面の隆起条の発達は概して悪く，外からこれを透視することは，幼魚を除いては困難である。両房の連結気道の発達は一定しない。他方，気道は太く発達し，気道弁はとくによく発達しその形状は，後端が膨大し，生体では赤味を帯びる。

3) ヒワラ： このフナは，解剖中，または活魚を水中で圧迫するとき，口から気泡を漏すのが見られる。また，他の二型のフナでは，解剖中に気道を切断すると断面から鰾内ガスを放出するが，ヒワラにおいては気道を切断しただけでは断面からガスを放出せず，さらに鰾を圧迫すると，その間だけ鰾内ガスを漏す。

鰾の形態を見ると，一見して発達が悪く，稚魚に共通なものに近い。すなわち，後房は側面より見ると短くて，末端に向つてほぼ円錐形*をなしているが，その上面観では幅が多少とも狭い。他方，前房の形状は他の二型のフナと大差がない。また鰾の壁ははなはだ薄くて透明であり，そのためには，前房下面にある走行の乱れた筋がよく透視され，また，後房では，側面に走る発達の悪い筋および，とくにこのフナに発達した隆起条が広汎に縦走している有様が明りように透視できる。気道は細く，とくにその前半では細い。また，気道弁はこのフナの特徴をなすものであつて，その発達の程度は萌芽的であり，個体によつては，たんに気道の僅かな太まりにすぎず，他の二型のフナに比して対蹠的である。

附記： その他，気道弁の検鏡所見があるが，今回は紙数の都合で記載を省略する。

む す び

ゲンゴロウブナ，ヒワラ，ニゴロの三型について，典型的成魚による形態比較を行つた結果，摂餌器官と鰾に大きな差異が見出された。これらの形態上の特徴は，従来掲げられて来たこれらのフナの形態的特徴に新たな知見を加える一方，それぞれのフナの生活と対応してみると，一そう興味深い。しかし，これらの知見は，典型的成魚に関するものであり，生長に伴なう特徴の変化および，それに関連する生活史の研究をしない限り不充分である。また，他方では，それぞれの形質の個体変異の意味を，群集生態学的に吟味することも一そう必要であろう。今後は，そのような方向に研究を進めたい。

文 献

1) 滋賀県水試： 琵琶湖重要魚類天然餌料調査報告 (稲並の調査を主とする), (1941).
2) 中村守純： 琵琶湖産源五郎鮒の生活史 (未発表), (1942).
3) 岡田彌一郎・中村守純： フナの品種に関する研究，文部省研究費による研究抄録 **2**, 1 (1949).
4) CHU, Y. T. (朱元鼎)： Comparative studies on the scales and on the pharyngeals and their teeth in chinese cyprinids, with particular reference to taxonomy and evolution. *Biol. Bull. St. John's Univ.*, **2** (1935).
5) EVANS, H. M.： A contribution to the anatomy and physiology of the air-bladder and Weberian ossicles in Cyprinidae. *Proc. Roy. Soc. London*, **97** (1925).
6) EVANS, H. M. and DAMANT, G. C.： Observations on the physiology of the swim bladder in cyprinoid fishes. *Brit. Journ. Exp. Biol.*, **6** (1929).
7) BERG, L. S.： Über *Carassius carassius* und *Carassius gibelio*. *Zool, Anz,*, **98** (1932).

* フナの一種，*Carassius gibelio* (BLOCH) の記載に際し DRJAGIN, P. A. (1931) が鰓耙数とともに掲げた重要な特徴。種の正確な名称は， *Carassius auratus gibelio* (BLOCH)——BERG[7], L. S. (1932)

計測による巾着網の研究—I.

豊後水道で操業されるイワシ巾着網の形状

近　藤　　仁・浜　田　悦　之

(1959 年 12 月 16 日受理)

STUDY ON PURSE SEINE BY MEASURING—I. ON SHAPE OF SARDINE PURSE SEINE OPERATING IN BUNGO CHANNEL

Yasushi KONDO and Etsuyuki HAMADA*

Upon the fishing efficiency of the sardine purse seine operating by night in Bungo Channel, with the gathering lamp, the depth of the net foot has an important influence.

On the gear shown in Fig. 1, the sinking depth of the net foot was measured with a self depth meter and some sounding chemical tubes, and moreover a model experiment was carried out in order to observe the transformation of the net.

The results obtained are as follows;

(1) The sinking depth of the net foot is as shown in Fig. 2 and Fig. 3. The depth of the middle part of the net foot was larger than the calculated net depth, but each wing of the net foot did not spread enough to reach the calculated net depth. The maximum sinking velocity (at the middle part of the net foot) was 16.5 m/min.

(2) The transformations of the net are as shown in Fig. 5. And on the sinking depth of the net foot, there was such difference between the full scale net and the model net as shown in Fig. 4.

(3) The fishing efficiency of this gear to the depth of fish school is as shown in Fig. 6. The deeper a fish school is, the more the efficiency decreases when the net foot does not reach the sea bottom.

I. 緒　　言

一般に旋網には，割合上層を遊泳している魚群を対象として昼間操業するものと，夜間集魚燈を用いて魚を集めて操業するものとの2種類がある。前者では魚群の水平的な動きが早いので，速やかに包囲する必要上二艘旋が多く，かつ網漁具の構造は浮子綱の長さに比して網丈が浅い。後者では魚群の水平的な広がりや移動は前者に比して少いが，魚群の上部が水面まで浮上しても大部分はかなりの深さに滞留していることが多いので，網漁具の深さはその性能上重要な条件であり，深く仕立てられているのが普通である。

この研究では後者の型に属する漁具で，豊後水道で操業されるイワシ片手旋巾着網について，漁具の垂直方向の展開性能を明らかにするために，現場における網裾の沈降状態の計測や，模型網による網成りの観察を行つた。さらに魚群探知機の記録から魚群量を推定して，魚群のいる深さと漁獲率の関係を調べた。

これらの測定により必ずしも充分な資料を得たとはいい難いが，従来この種の資料は模型網によるもの[1],[2],[3]の外，ごく少い現状[5]であるので，今後巾着網の研究に多少でも参考になればと思つたので報告する。

II. 研究の対象とした漁具

この研究は第3浜丸について行つた。該船は木造40トン，120馬力のもので，大分県米水津港を根拠とし豊後水道附近の200米以浅の陸棚で夜間操業するのを普通としている。使用している網漁具の概要を Fig. 1

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

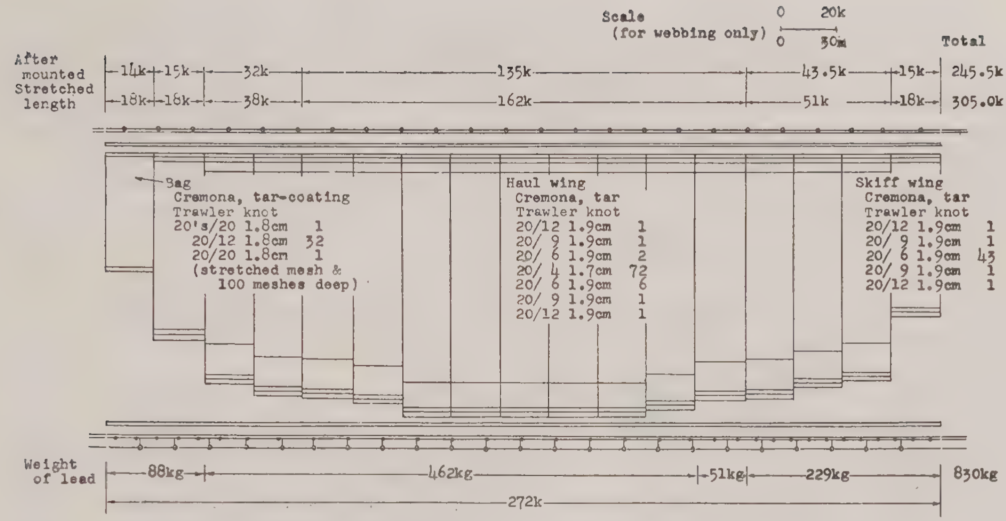


Fig. 1. Construction of sardine purse seine.

に示す。

操業方法は，集魚船（3 kw 集魚燈）で投光集魚し，それを中心に網船一艘で旋網する。投網は概ね 3 分間で終るが，約 1 分後に環締めを開始し，環締め作業は約 14 分間で完了する。前記の操業が基準の方法であるが，魚群が深いところに滞留している場合には，3～5 分間の環待ちを行つてから，環締めを開始することもある。

この海区の漁船の装備，網漁具の構造，操業方法等はいずれの船でも大同小異である。

III. 網裾の沈降水深

1. 測定機および測定方法

網裾の沈降水深の測定には自記水深計およびケミカルチューブ（井上製作所製，60 cm）を用いた。自記水深計は内径 9 cm，長さ 20 cm の鉄製円筒の中に，ブルドン管圧力計と時計装置を組込んだもので，水中重量は 2 kg，水深 210 m まで計測できるように設計した。記録ペンの変位は水深 10 m に対し 1 mm，記録紙の送り速度は毎分 2 mm である。この水深計の機差は水圧試験の結果では，水深 10 m 相当で 10%，100 m 相当で 2% であつた。なお使用に当つては常にケミカルチューブを水深計の傍に取り付けて併用した。

これらの測定器はいずれの場合でも漁具の環綱に取り付けたので，真の網裾水深より ±1 m 位いの測定技術上の誤差が含まれた。

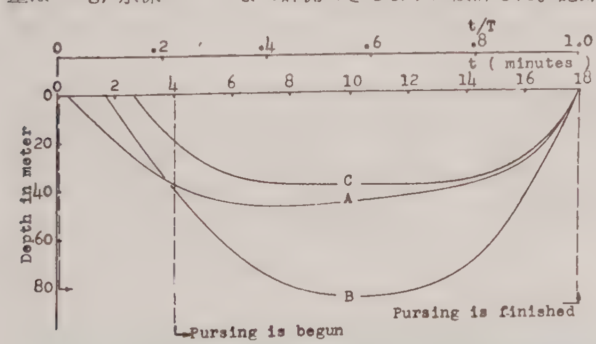


Fig. 2. Relation between the time and the foot depth.
t ; Time elasped from easting net
T ; Time from beginning of casting to the end of pursing (18 min. in this case)
A ; Bag part (shown in Fig. 3)
B ; Middle part (〃)
C ; Skiff-wing part (〃)

2. 測定結果および考察

(a) 網裾の沈降状態

Fig. 2 は自記水深計を漁具の手端，中央，魚取りの網裾に取付け，操業中における網裾の沈降状態を記録させたものである。

この図によれば，いずれの部位においても環締めが始まつても，なおしばらくの間沈降しているのがわかる。これは両手端では環綱のたるみが巻き取られる間の現象であり，したがつて割合早く環締めの影響が現われ，網裾の沈降がとまる。このため両手端では網地が充分展開することができないであろう。中央部は環締めの影響が仲々およばないので，網地は充分展開する。この記録から中央部網裾が水面近くを沈降して行く速度は 16.5m/min. であつた。

(b) 各部網裾の最大到達水深

Fig. 3 は網裾の適当な場所に自記水深計やケミカルチューブを取り付け，各々の最大到達水深を測定し，それらの点を結んで網裾全体の様子を示したものである。

併記した折れ線bは縮結と収縮を加味した計算上の網丈である。綱や網の収縮は染め付けと湿潤とによつて主として生ずるもので，この漁具を実測したところ，マニラおよびクレモナ（万漁5号）の綱で 8%，クレモナ蛙又網地で 18% の収縮があつた。

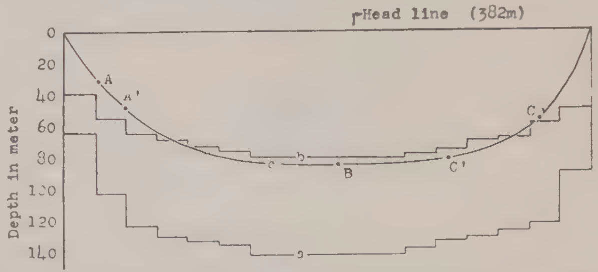


Fig. 3. Relation between the calculated and the observed depth of the net.
Remarks: a; Streched depth of the net.
b; Calculated depth of the net.
c; Observed depth with a depth meter and sounding chemical tubes
A, A′, B, C, C′; Observed points

水中における網裾の実測値と計算上の網丈を比較すると，両手端では実測値が計算網丈よりかなり浅い。これは操業する時に手端が束ねられていることと，締括により沈降が妨げられるからである。このためにこの部分の網地は甚だしくたるむことになり，環喰いの起る原因となるのであろう。

中央附近の網裾は実測の方が計算網丈よりもやや深く沈下している。これは両手端の網地のたるみの影響とさらに締括による網裾部分の網地が集束されることのためであろう。

IV. 模型網による検討

1. 模型網の製作および実験方法

模型網は田内法則[4]によつて製作した。すなわち全体の大きさを実物網の 1/75 としたので，浮子綱の長さは収縮を計算に入れて 5.2m とした。両漁具の主要網地の比は，目合いおよび糸の直径において 0.85 のアミラン網地を用いたので，時間比は 1/63 となつた。

模型網の投網装置は，実物網投網時の網船の航跡状に円型の枠を作り水面上に吊るした。それにそわせて模型網を縛着して置き，予定時間内に投網が完了するように，縛着紐を魚捕り側から順次電気的に切断して投網した。そして網が沈降し，環綱が締結される状況を上・横および網の合せぐちの三方向から8ミリ映画カメラで撮影した。

2. 実験結果および考察

(a) 網成りの観察

Fig. 4 は標準操業の場合に合せて実験した時撮影した記録を転写したものである。

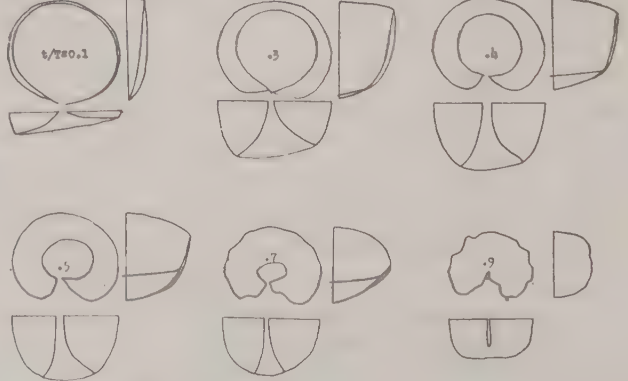


Fig. 4. Transformation of the net.

側面図にあらわれているように，中央部の網裾は沈降して行き最大水深に

到達してしばらく落ち着いているが，網船に引寄せられ徐々に浮上しつつ魚群を下から掬う形を呈する。したがつてこの種の旋網では中央部の網裾の到達水深はその性能を左右するものである。また両手端の合せ口はほとんど最後まで大きく開口していることは，旋網の欠点であるので構造上検討を要することである。

(b) 環待ち時間と到達水深

投網完了後直ちに環締めを開始せずに，若干時間環待ちを行なうことは，網裾の到達水深を増す手段としてよく行われる。模型網を用いて，環待ち時間の影響を実験した結果，模型網を実物網大に換算して5分間環待ちを行う場合が最も深く網裾が到達した。5分以上環待ちを行つても網裾到達水深は増大せず，5分以下では徐々に浅くなる。但し，これは後述の如く実物網の沈降速度が模型網とは異るので，これを補正したものである。

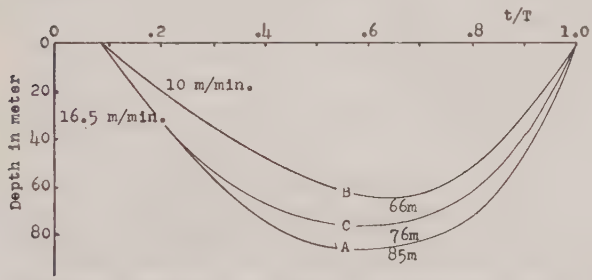


Fig. 5. Difference on sinking depth between field and model experiment.
A; Field experiment
B; Model experiment
C; Model experiment (in the case of corrected time)

(c) 実物網との比較

Fig. 5 は標準操業をした場合における中央部網裾の沈降曲線である。この図から実物網に比較して模型網の網裾が著るしく浅いことがわかる。実物網の測定値には前述のごとき誤差が含まれているが，それら以外の大きい誤差はないものと思われる。したがつてこの差異は模型網に由来するものと考えられる。両網では沈降速度が違うので仮りにその値が等しくなるように模型網の時間比を変えてもC線のごとくで，なおかつ到達水深は実測値と接近しない。

斯様に実測値と模型実験結果との間に差異を生ずるのは，主として網糸の剛さのために網地の展開性能が異ることによるものと思われる。

V. 本漁具の深度的適合度

魚群探知機（水産電気 K. K. 製，K-26 型，14 KC，0～160 m）を搭載した網船が，投網直前に燈船を中心として十字に航走して魚群の記録をとる。この記録からつぎのようにして魚群の量を推定した。

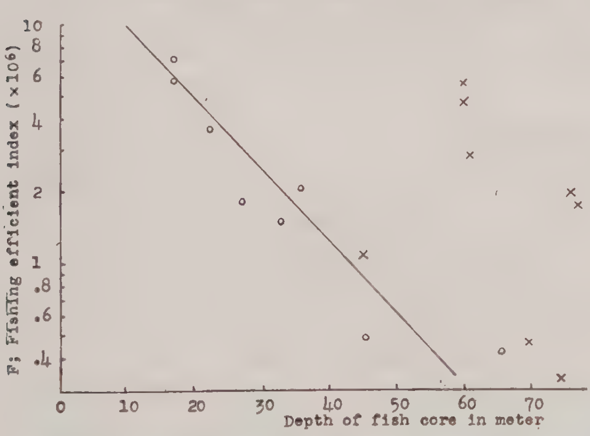


Fig. 6. Relation between the depth of fishing school and fishing efficient index.
Remarks: ○; In the case of the net foot does not reach sea bottom
×; In the case of the net foot reaches

すなわち魚群の厚さ (Z) および半径 (R) は魚探の記録紙から読取ることができるので，魚群の形を円柱とみなし体積を求める。その魚群の濃度 (C) は記録紙上の映像の濃度を目分量で 1～3 の3階級に分けて用いた。

一方，この時漁獲があり，その数量が明かであれば次式によつて計算したものを漁獲指数 (F) とした。

$$F = Y/C\pi R^2 Z$$

この指数と魚群の中心水深との関係を Fig. 6 に示す。

魚群が深いところにいれば当然漁獲指数は急激に減少し，浅いところにいた魚群に対し，深い魚群では甚だしく漁獲量が減少する。漁場の水深が十分深く網裾と海底と

が離れている場合は上記のごときことがいい得るが，網裾が海底にとどくような浅い漁場では，当然指数は大きくなる。冬期水温が低下して魚群が浮上しなくても，このような漁場では好漁が期待できる。

VI. 要　　約

夜間集魚灯を用いて操業される豊後水道のイワシ巾着網では，網裾の沈降水深が漁獲率に重要な影響をおよぼす。この研究では，実物網の網裾の沈降状態を自記水深計およびケミカルチューブを用いて測定するとともに，さらに網成りの変化を観察するために模型実験を行つた。なお何程の深さにいる魚群まで漁獲できるかについて検討した。その結果はつぎのごとくである。

1. 網裾の到達水深は Fig. 3 に示されるごとく，中央部では仕立網丈よりも深く達し，両手端では浅い。
2. 中央部網裾における最大沈降速度は 16.5m/min. であつた。
3. 網の操業中における形状変化は Fig. 4 のごとくである。
4. 網裾到達水深は模型と実物では Fig. 5 のごとく差が見られた。
5. 本漁具の魚群の深度への適合度は Fig. 6 のごとく深さが増すと急激に適合度が低下する。ただし網裾が海底に接着する場合は別である。

この研究を行うに当り，現場測定の際には第3浜丸の船長以下乗組員の諸氏に大変お世話になつた。水深計の検定については東京工業大学草間秀俊博士の研究室の試験槽を使わせていただいた。模型網実験を行うに当つては東海区水産研究所森田重嶺部長および野村正恒技官の特別の御配慮により同研究所の水槽を使用させていただくことができた。擱筆するに当りこれらの方々に衷心から厚くお礼申し上げます。また終始御援助下さつた東京水産大学井木誠氏および協力下さつた寺沢清人・石部信二・宮田洋・木本清暉の諸氏に謝意を表します。

文　　献

1) 宇野道夫: 本誌，**4**，3 (1935).
2) 井上　実: 本誌，**19**，9 (1954).
3) 飯高勇之助: 本誌，**20**，7 (1954)；**21**，1 (1955)；**21**，7 (1955)；**22**，7 (1956).
4) M. Tauti: 本誌，**3**，4 (1934).
5) 千種正則・片岡昭吉・広瀬　誠: 農林省水産講習所研究報告，**6**，1，p. 91 (1956).

気泡網に関する研究—II.

二，三の海産魚についての駆集および遮断効果

江 波 澄 雄

(1959 年 12 月 18 日受理)

STUDIES ON THE BUBBLE-NET—II. EXPERIMENTS ON SOME SEA-WATER FISHES PERFORMED ON THE DRIVING AND INTERCEPTING EFFECTS

Sumio ENAMI*

In order to observe the driving and intercepting effects on Therdpon servus, Apogon notatus, Gerres erythrourus, Chromis notata and Trachurus trachurus, some laboratory experiments on the bubble-net were done with the method mentioned in the previous report.

As the result of that experiment some effects of the bubble-net on these fishes were observed, furthermore it was ascertained that these effects were to be influenced by the air amount of the bubble-net and the visional response ability of the fish toward the air-amount, and as to the air-amount which is necessary to bring forth any intercepting effects, no good result was to be obtained, both when there was too much air-amount and when too little.

本研究の目的は，漁網の作用機能の半面である魚鮮の駆集，遮断，誘導および蝟集等の効果をあげるべく各種条件における噴出気泡に対する魚の感覚生態学的反応性を究明し，それを漁具として積極的かつ合理的に利用せんとするもので，これにより漁獲性能の向上と資材労力の節減を意図している。

筆者は前報[1]において，キンギョやメダカ等の二，三，の淡水魚について，気泡網による駆集および遮断効果のあることを報告した。今回は，前報とほぼ同様の実験方法により，コトヒキ，クロホシイシモチ，クロサキ，スズメダイおよびマアジ等の海産魚について，気泡網の駆集および遮断効果を認め，若干の考察を行つたので，その結果を報告する。実験について好意ある御援助をいただいた鹿児島水族館の方々に深く謝意を表す次第である。

実験材料および方法

実験に使用した魚種は

コトヒキ	Therapon servus (*Bloch*)	体長 25～35 mm
クロホシイシモチ	Apogon notatus (*Houttuyn*)	体長 35～50 mm
クロサキ	Gerres erythrourus (*Block*)	体長 35～45 mm
スズメダイ	Chromis notata (*Temminck and Schlegel*)	体長 45～60 mm
マアジ	Trachurus trachurus (*Linné*)	体長 70～90 mm

の5種類で，採集後，小型循環水槽 (水温 21～25°C) にて 5～7 日間飼育したものを使用した。

実験水槽は暗室中央に設置し，木枠四面ガラス製 (長さ: 80 cm，幅: 50 cm，高さ: 35 cm) のもので，水深 25 cm，水温 21～25°C，水槽の中央水面上 80 cm に 10 W の白色電球をつけ，できるだけ光条件を均一にし，夜間6時から 10 時の間実験した。

* 鹿児島大学水産学部 (Faculty of fisheries, the Kagoshima Univ.).

気泡発生装置は，送気のために岩田製エヤーコンプレサー 1/4 HP を使用，調節弁にて送気用ビニールホース（内径 3 mm）口で送気圧力を毎平方吋 1, 4, 10 および 20 封度になるよう調節した。ビニールホース末端は気密にして閉じ，それより 40 cm（駆集の場合，直線）または 50 cm（遮断の場合，径 16 cm の円型）の間に，気泡噴出孔として，径 0.3 mm の孔を，5, 10, 20 および 40 mm 間隔にあけ，駆集の場合は柄付短形の針金枠の底辺にとりつけ，遮断の場合は径 16 cm の柄付円型針金枠にとりつけた。

駆集効果実験は，気泡噴出のためのビニールホースをとりつけた針金枠を水槽の一端におき，円筒型ブリキ（蓋および底なし，径 15 cm，高さ 30 cm）を枠の中央部で枠に近接させ枠の移動方向側におく，つぎに，その中に供試魚一匹を入れ，気泡を噴出させて，魚が落付いてから円筒型ブリキを魚にできるだけ影響をおよぼさないように引あげると同時に枠を毎秒 1 cm の速度で移動させ，魚が枠の反対側に出るまでの距離（時間）を一応駆集可能距離（時間）とした（Fig. 1）。遮断移動実験および遮断静止実験の場合は，それぞれ円型針金枠を水底におき，その中に，円筒型ブリキをおく，気泡は円筒状に噴出させ，移動の時は水槽の一方の側から反対側に毎秒 1 cm の速度で移動させ，静止の時は水槽中央において，それぞれ駆集効果実験の場合に準じて，遮断可能距離（時間）を求めた。

供試魚は 1 匹ずつで，気泡に対する学習効果をできるかぎり除くため 1 匹連続使用を 3 回前後に止めた。なお実験は一実験 20〜30 回くり返し行い，対照実験として気泡のない場合の実験も実施した。

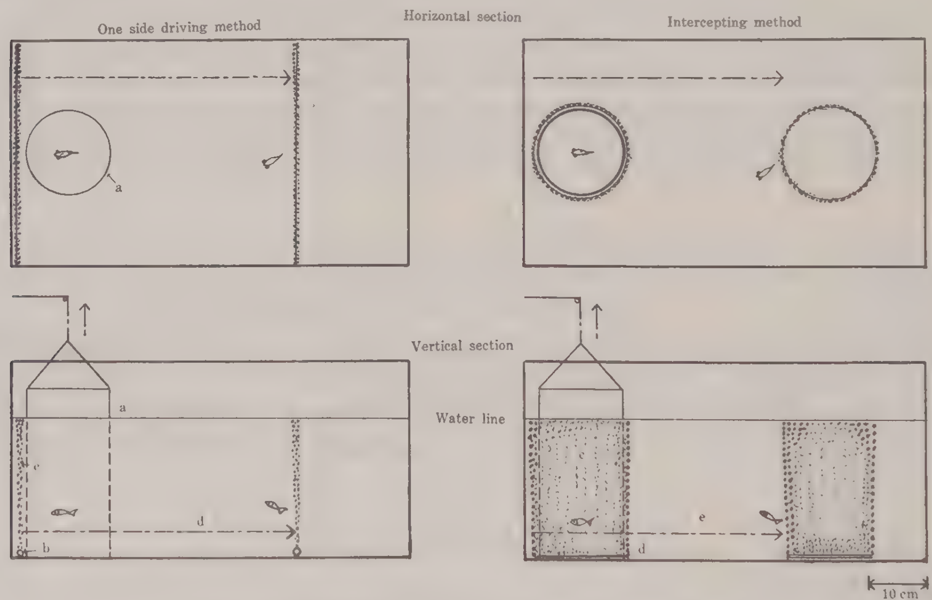


Fig. 1. Methods of the driving and intercepting.
a: Cylindric tinplate, b: Vinyle hose which was set by the wiring frame, c: Compressed-air curtain (bubble-net), d: Driving disrance in cm, e: Intercepting times in sec. At first a is drawn, next time b is moved by the speed of 1 cm/sec.

実験結果とその考察

1） 駆集効果実験　送気圧力を毎平方吋封度とし，各気泡間隔における単位面積当り（10 cm²）の気泡数をみると（Table 1），間隔がせまくなるほど気泡数は多くなつている。気泡自身の大きさも若干相違するが，これをほぼ同じとみれば結局，間隔がせまいほど空気量*が多いことになる。

* 現在，本学部黒木敏郎博士の御助力で空気流量計（オリフィス）を製作，調製中。

Table 1. Relation between condition of the bubble-net and number of bubbles in 10 cm² of the compressed-air curtain.

Condition of bubble-net (Dia. of bubble-hole: 0.3 mm, Pressure-air: 1 lbs/in²)		Number of bubbles in 10 cm²
The length of the space between bubble-holes on vinyle hose	Number of bubble-holes in 40 cm, vinyle hose	
40 mm	11	100 (92～113)
20	22	160 (150～171)
10	44	220 (208～228)
5	88	280 (267～294)

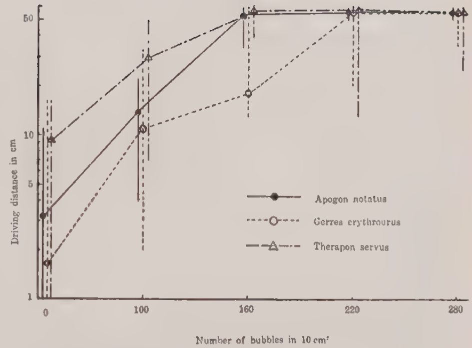


Fig. 2. Driving-effects curve.

魚種別に，これらの空気量に応じた駆集可能距離をみると (Fig. 2)，クロサキ，クロホシイシモチおよびコトヒキの順で，駆集効果がよく顕れ，魚種別に相違のあることが推定される。しかも，前報の淡水魚の場合と同様に，この程度の空気量の範囲では，各魚種とも，空気が増せば次第に駆集効果もよく顕れるようになり，ある程度の空気量（この場合，単位面積当り気泡数約 220/10 cm²) 以上になると，その効果がほぼ一定となる傾向がうかがわれる。このことは，有効気泡の選定についての有力な手がかりとなるもので，今後この限界を中心に，気泡の大きさおよび速度等を併せ考えて，気泡に対する魚の反応性を検討する必要がある。

2) 遮断効果実験　将来，気泡網を巾着網に利用することを想定し，気泡を円筒型に出させて，その中に魚を入れ，それを移動させた場合と静止状態にしておいた場合について，それぞれ各魚種についての遮断効果をみると (Fig. 3, 4)，いずれも魚種別に若干の相違がみられるが，駆集の場合と大体同じ傾向で遮断効果が認められた。しかし，特にマアジの場合，他の魚に比較して，その効果があまり期待できなかつた。これは供試魚の魚体が大型で，その游泳力および游泳の場合の回転曲率等を考えた場合，気泡網が小さすぎたためとも考えられる。この点スズメダイは比較的好結果が得られた。

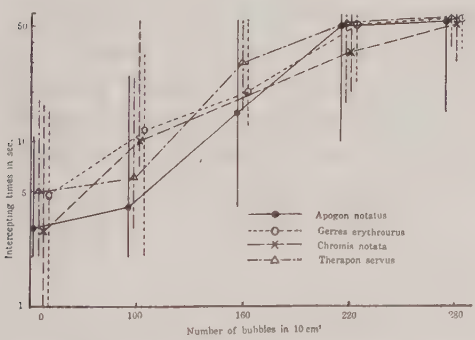


Fig. 3. Intercepting-effects curve by the intercepting method.

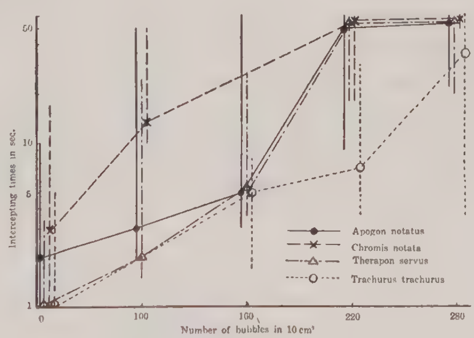


Fig. 4. Intercepting-effects curve by the static intercepting method.

気泡孔間隔を一定 (20 mm) にして，送気圧力を毎平方吋 0，1，4，10 および 20 封度にして空気量を増やした場合に，コトヒキの遮断（静止）効果をみると (Fig. 5)，空気量が比較的少い場合の効果はほぼ前述の通りであるが，送気圧力が 20 lbs/in² にも達すると，かえつて遮断効果が減少する傾向がある。これは，空気量が非常に多くなると，上昇する気泡によつて生ずるいわゆる気泡噴流の速度が極めて速くなり，遂に魚の游泳力を越えた場合，噴流に近づいた魚が，これにまきこまれるようにして気泡網外に出るためである。

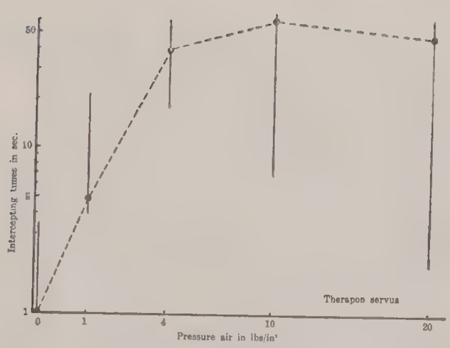


Fig. 5. The relation between pressure-air on the bubble-net and intercepting (the static intercepting method).

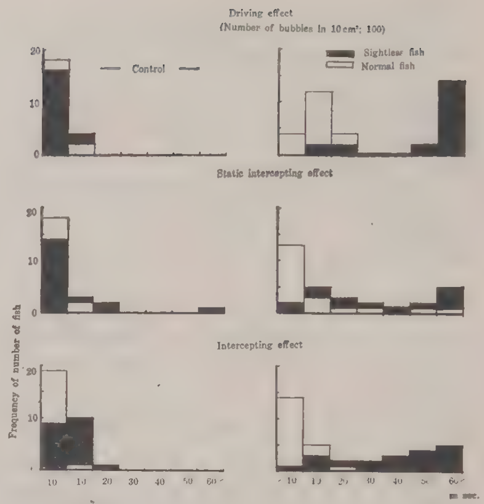


Fig. 6. Comparative frequency-distribution of the driving and intercepting effects between normal fish and sightless fish.

魚が気泡の存在を最初に知覚し，反応するものは視覚または聴覚によるか，あるいは気泡噴流に関係する流れに対する流覚によるものと推測される。視覚による効果をみる試みとして，クロホシイシモチについて，眼球を摘出して視力をなくしたもの*と通常のものとについて，それぞれ駆集および遮断効果を比較してみると (Fig. 6)，視力のない方が，あるものより，それらの効果がよく顕れている。視力のある魚が気泡網から出る状況は，気泡列の間を縫うようにして，ぬけ出ている場合が大部分で，視力のない魚の場合はそのような傾向はない。いずれにしても魚が視覚によつて気泡を知覚し，このような行動をとるものと考えられよう。将来，気泡網の合理的な作用機能を考える場合，魚の可視距離，可視照度および気泡噴出状況等につき，視覚に関係するより精微な実験をしなければならない。

む　す　び

クロホシイシモチ　コトヒキ，クロサキ，スズメダイおよびマアジ等の海産魚を使用して，気泡網による駆集および遮断効果の水槽実験を行つた結果，魚種別に若干の相違はあるが，前報の淡水魚の場合と同様に一応，駆集および遮断効果を認めることができた。これらの効果は，主として気泡網の空気量（少くとも単位面積当り気泡数や気泡噴流の強さ等）とそれに対する魚の行動生態（遊泳力や視覚による反応行動等）とに影響され，特に遮断効果（静止）の場合の空気量はあまり少なすぎても，またあまり多すぎても好結果は期待できず，有効気泡の選定について有力な手がかりを得ることができた。

文　献

1) 江波澄雄：気泡網に関する研究—I，鹿大水産学部紀要，Vol. 8 (1960).

* Urethane 0.2 mol の海水溶液中で魚を麻酔（60～90 秒）させて後，眼球摘出手術（40～60 秒，0.2 % Liquor mercurochromi 塗付）をした。海水にもどして 60 秒以内に呼吸開始，3～5 分後に通常の姿勢に戻るが，10 分前後までは不安定な游泳をした後，次第に落付いてくる。実験には少くとも 5 日前後飼育したもののうち比較的元気のものを使用した。

魚の游泳定位について

内橋　潔

(1959年12月19日受理)

ON THE SWIMMING LOCALIZATIONS OF FISH

Kiyoshi Uchihashi*

1) Goldfishes and carps were arranged in three groups, namely of normal ones, of blind ones, and of blind ones of which lateral lines had been removed and the receptors of facial nerves had been incinerated.

Their localization against the stream direction was studied.

2) As for goldfishes and the carps the blindness seemed to have caused some difficulties in localizing them against stream.

3) When blind goldfishes or carps shifted to the region where the direction and the velocity were somewhat different from the main stream, it seemed easier for them to localize themselves against it.

4) When the lateral lines of blind carps had been removed, a great difficulty was observed for them in localizing themselves against stream. But when their bodies contacted some fixed objects, the counter-stream localization was observed.

5) Blind carps whose lateral lines had been removed, and whose tactile organs in their faces had been incinerated could never localize themselves against stream.

6) No significant difference was observed between the ability of counter-stream localization of a goldfish and that of a carp.

魚が水平的に游泳する場合の定位 (Localization) については，視覚および聴側線感覚が関与していることが多くの研究者によつて知られている。主なものを挙げると，Lyon (1905), Gottey (1905), Clausen (1931), Retzlaff (1954) などであるが，海洋中における水塊の移動や水塊中の流動に対して，魚が如何に定位するかは，充分解明されていない現状である。

この種の問題は海洋中における魚群の移動と関係が深いので，早急に解明するための基本的な手段として若干の実験を続行中であるが今回はその一部を報告する。

実験に当つて，日本海区水産研究所資源部長加藤源治技官，本田厚子嬢等の協力があつた。ここに記して深謝の意を表したい。

実験材料と方法

実験材料としては，ワキン二年生，体長 5～7cm，コイ一年生，体長 8～10cm のものを使用した。これらの実験材料は室内の水槽で 1～2 カ月間飼育したもので，健康上何等の異状がなかつた。

1. 正常なワキンおよびコイの一群は対照用として使用した。
2. ワキン *Carassius auratus* (Linné) およびコイ *Cyprinus carpio* (Linné) を 2% ウレタンで麻酔し，両眼球を摘出して，視覚欠除魚となし，水流に対する定位の状況を調査する材料とした。
3. (2) の方法によつて盲目にしたワキン及びコイの側線を opercle の上部直後で切断した。これは盲目かつ posterior lateral line nerves を欠除した魚が，水流に対する定位の状況を調査する材料とした。

* 日本海区水産研究所 (Japan Sea Regional Fisheries Research Laboratory, Niigata, Japan).

4. (2) と (3) の方法によつて手術したワキンおよびコイは，盲目かつ側線 posterior lateral line を欠除しているが，この魚を 2% ウレタンで麻酔し，顔面に分布する第 7 および第 9 脳神経のつくる受容器を 10% 硝酸銀で焼却し，この種の魚が水流に対する定位の状況を調査する材料とした。

なお前記の手術を施した魚体は 5〜12 日間投餌飼育した後実験に使用した。

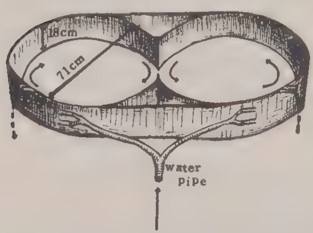


Fig. 1. Design of apparatus employed.

実験方法としては，亜鉛鍍金の鉄製の扁平にして円形の水槽を図のように (Fig. 1) 2 個を連絡し，圧力のかかつた水道管より直接注水して，タンク内の水を一定の方向に回転せしめた。排水はタンク上部排水口より over-flow せしめ，直径 71 cm，深さ 18 cm あるタンク周辺部の流速は，注水量の加減によつて変化させることができるが，今回の実験ではタンク辺周の流速を 20 cm/sec. に一定した。また上記とは別に直径 30 cm，深さ 8 cm の扁平な水槽に水道水を注入して流速 60〜80 cm/sec. の流れをつくつて実験に供した。

実験期日は 1959 年 9 月 22 日，10 月 5 日で，実験中の用水温は，それぞれ，19〜21°C と 18.1〜20°C であつた。また実験に使用した魚体数は 2〜3 で，実験中における魚の行動は，定位状況の変化ごとにタンク上部より写真撮影して観察記載の材料とした。

実験の結果

I. ワキンおよびコイの盲目にしたものの定位状況

A. 流速 20 cm/sec. の場合，手術魚は腹部を水槽底部に接して，流れの来る方向に向つて定位する。時に浮上して行動を開始する場合は，必ず流れの来る方向に向つて游泳をはじめる。両者の行動に大差なし。

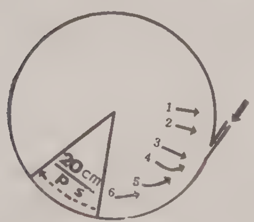


Fig. 2. Changes of localization of blind fish.
→ Current. → Localization of gold fish or carp.
➡ Water pipe.

B. タンクの中心部附近の水底より浮上して，周辺部に魚が向うような場合，流れの早い部分に入ると，ワキン，コイともに頭を流れの来る方向に立て直して泳ぐ。(流速 20 cm/sec.)

C. 流れとともに魚が流される場合がある。この時注水口附近のように特に流速が大で，かつその方向が多少異なる場合に達すると，ワキン，コイとも体位を立て直して流れの来る方向に頭を向けて泳ぐ。しかし，魚は主流に多少流される。(流速 20 cm/sec.)

D. 流速が 60〜80 cm/sec. 直径 30 cm，深さ 8 cm の円形水槽) の場合魚は水流によつて流されるが，頭は常に水流の来る方向に向けて泳ぐ。コイとワキンでは差はほとんどない。

II. 盲目にして，その上側線を切断したコイの定位状況

A. 水中に浮いている場合，体を横にして水流とともに流れる。流速 (20 cm/sec.)

B. 水中に浮いている場合，体位を横にして流れつつある時，側壁に体の一部が触れると，体位を立て直し流れの来る方向に頭を向ける。(流速 20 cm/sec.)

C. 水中に浮いている場合，流れに向つて游泳しつつ流される時と流れに向う方向に頭を向けて流される場合がある。(流速 20 cm/sec.)

D. 流速が 60〜80 cm/sec. の場合においては，魚体はほとんど流れの向う方向に頭を向けて流される。

III. 盲目，側線切除，顔面に分布する Tactile organs を焼却したコイの定位状況

A. 水中に浮いている場合，手術した魚体はほとんど浮草のごとく，水の流れとともに流れ，全く rheo-

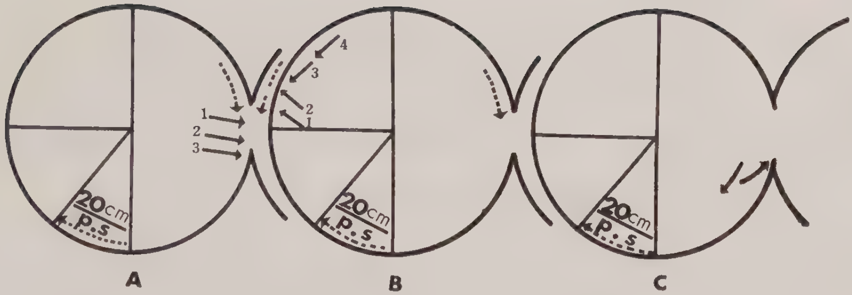


Fig. 3. Localization of blind carps whose lateral lines had been removed.
(A)····Fishes sink downward with current.
(B)····Reheotropism occurs under the tactile stimulus of the sides.
(C)····Some of fishes sink down with current, and some float upward against current.

tropism を示さない。また注水口附近において速い流れ，または若干方向性の異なる水域に達しても何等の反応を示さない。(流速 20 cm/sec.)

B. 胸鰭または腹鰭を水底面につけているような場合，魚は，流れの来る方向に対して頭を向ける。(流速 20 cm/sec.)

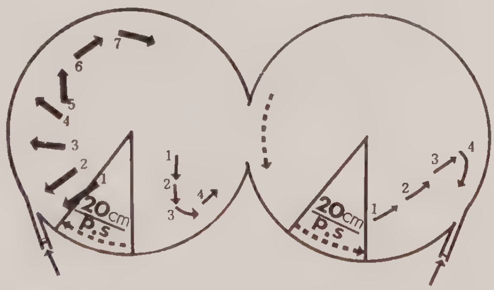


Fig. 4. Difference in localization of carps.
→ Blind carps whose both lateral lines, and tactil organs have been removed.
⇢ Blind carps whose lateral lines have been removed.

要　　約

(1) 正常群，盲目群，盲目＋側線切除群，盲目＋側線切除＋顔面神経焼却群などの実験用のワキンおよびコイについて水流の方向とその定位の状況を調査した。

(2) 水の流れに対してワキンやコイが定位する場合，盲目であることは多少障害となる。

(3) 盲目のワキンおよびコイにとつて，主体をなす流れの方向や速度と多少異るところに急に移ると流れに向つて定位しやすい。

(4) 盲目にして，かつ側線を切除したコイが水流に向つて定位する場合，側線切除が多大の障害となり，水流に対して定位することは随分と困難になる。しかし固定する物体に触れた場合は流れに向つて定位する。

(5) 盲目にして，かつ側線切除，顔面の tactile organs を焼却したコイは水流に対して，全く定位することができなくなる。

(6) コイとワキンとでは，水流に対する定位の能力には大差がない。

文　　　献

CLAUSEN, R. G.: Orientation in fresh water fish. Ecology, Vol. 12 (3), 1931.

GARRY, W. E.: A slight reflex show by stticklesacks, Biol. Bull. Wood Hole. Vol. 8, pp. 79～84.

井伊 明・井上喜平治・内橋 潔・柘植秀臣: 魚類の夜間行動に関する研究—I. 日本海区水産研究所創立三周年記念論文集, 1952.

——: 魚類の夜間行動に関する研究—II. 本誌, **19** (4), 1953.

LYON, E. P.: On rheotropism I. Rheotropism in fishes. Amer. J. Physiol. Vol. 12, pp. 149～161, 1905.

RETZLAFF, E.: A mechanism for excitation and inhibition of the Mauthner's cells in teleost; Histological and Neurophysiological study. J. Comp. Neur. 107, (209～225).

ゴマサバの海域別産卵期の考察

田ノ上豊隆・倉田洋二・徳留陽一郎

(1959 年 12 月 19 日受理)

ON THE SPAWNING-SEASON OF THE MACKEREL, *PNEUMATOPHORUS TAPEINOCEPHALUS*, BLEEKER IN THREE DIFFERENT REGIONS, EAST CHINA SEA, SATSUNAN AND IZU.

Toyotaka TANOUE*, Yoji KURATA** and Yoichiro TOKUDOME***

On the spawning season of mackerel, *P. tapeinocephalus* and its apt water-temperature in the fishing-grounds of East China Sea (south of 29°N lat), Satsunan and Izu, some investigations were carried out examining the state of the gonad index (G.W./B.L.$^3 \times 10^3$), the collected larvae, and the sea conditions of the fishing grounds. The results obtaind are as follows:

(1) In the East China Sea, Satsunan (South Sea off Kagoshima Prefecture) and Izu fishing grounds, the spawning-season, the best time for spawning, water-temperature were ascertained as shown in the following list.

	Spawning-season	Best time for spawning	Water-temperature
East China Sea:	Jan.～May	Feb.～Apr.	18～23°C
Satsunan :	Jan.～June	Feb.～Apr.	17～23°C
Izu :	Feb.～June	Mar.～May	17～23°C

(2) The spawning mackerel of January in Satsunan is such large-sized as beyond 34 cm in fork length and that of February in Izu is such one as beyond 37 cm in fork length.

(3) In the fishing ground of East China Sea, Satsunan and the around off Miyakejima, *P. tapeinocephalus* seems to become mature at the term when the water temperature begins to rise from the lowest degree.

緒　　言

伊豆諸島周辺，四国太平洋岸，薩南海区，東支那海の大陸棚から台湾北部に至る海域等は，いずれもゴマサバの産卵場と見做されている海区である。このうち，東支那海の産卵生態については，1953 年から 5 ケ年間にわたつて組織的な調査研究が実施されて，多くの成果[1] があげられたが，薩南では二，三の報告[2),3),4)] がある程度にすぎない。また四国・伊豆方面のゴマサバについては，まだ，ほとんど研究されていないようである。

筆者等は 1955 年以降，北緯 29° 以南の東支那海南部漁場，薩南漁場，伊豆諸島周辺漁場で釣獲された魚体の生殖腺熟度指数の変化を調べ，かつ同時期に，稚魚の採集を行つて両結果からそれぞれの海域の産卵期を推定し，併せて各漁場の観測資料を用いて産卵と水温との関係について考察を加えた。

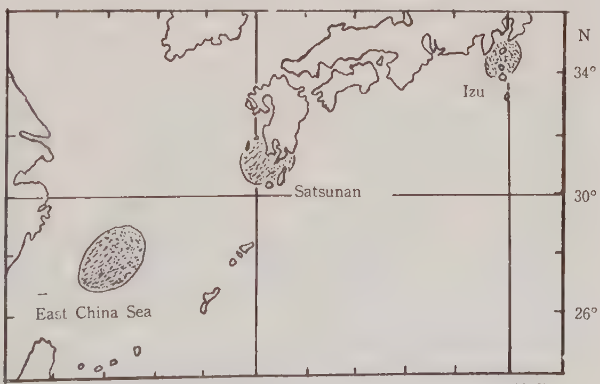


Fig. 1. Location of the mackerel fishing-grounds.

材料および調査方法

漁場区分は Fig. 1 に示すごとく東海

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).
** 東京都水産試験場 (Tokyo Pref. Fish. Exp. St., Tokyo, Japan).
*** 鹿児島県水産試験場 (Kagoshima Pref. Fish. Exp. St., Kagoshima, Japan).

南部 (29°N 以南)，薩南，伊豆の三海域に大別した。

材料は 1955 年以降毎年 1～6 月の間に釣獲されて，東海南部と薩南は鹿児島港に，伊豆は波浮港と伊東に水揚げされたものを 1 回に 25 尾程度を乱取りして測定したものである。なお尾叉長 27 cm 程度までの個体ではほとんど生殖腺の肥大したものが見当らなかつたので，ここでは 28 cm 以上を用い，これらの性比，熟度指数，群成熟度等を調べた。

性比は産卵群の内で雌の占める割合で示し，熟度指数は $G_1 = G.W./l^3 \times 10^3$ によつた。また群成熟度は雌だけについて，肉眼で卵粒が明瞭に認められて $G_1 \geqq 0.5$ の個体を機能的な成熟個体と見做し，雌の中でそれらの占める割合をもつて示した。この結果は江波・相川[5] が成熟の最低限界を求めた値より若干生殖腺重量が大きくなる程度で差は少い。

稚仔魚は東海南部と薩南では表層を 1.5 m 直径の，10 m 層を 1.0 m 直径の稚魚ネットで，毎時 2 ノットの速さで 20 分間水平に同時曳きして採集したもので，今井貞彦氏の査定によつた。伊豆海区においては㊕ネットを 150 m 層から垂直曳きして得たものである。

漁獲水温と表面水温は東京都水試[6]，鹿児島水試[7]，愛媛県三瓶漁協所属船[8]，鹿大水産学部[9] 等の調査資料を用いた。

調査結果と考察

体長組成: 漁場別の体長頻度分布は Fig. 2 の通りである。東海南部では 31～36 m が全体の 88% で単一モードの典型的な正規分布となつており，伊豆でも似たような分布型を示している。薩南では前 2 海区に比して 37 cm 以上の超大型魚が多く 30% に達している。この大型魚群は金森[10]等が指摘したように春季大隅群島周辺に接岸来游するもので，漁具の選択性によるものでなく，当海区の産卵魚群の特性を示すものとみるのが妥当である。

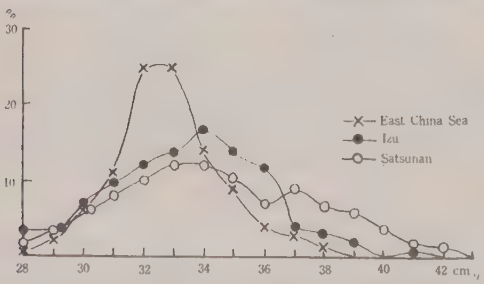


Fig. 2. Frequency distribution of body-length of *P. tapeinocephalus.*

性比: 海域別の月別変化を Fig. 3 でみると，東海南部は初期に 50% 程度で雌雄ほぼ同数であるが，漁期の推移に伴つて雌はかなり増えている。薩南は漁期を通して雌の割合が若干多く，月毎の変動が少い。伊豆は全期間雌は少く，前二者とやや異つた比率を示している。この現象は伊豆海区の産卵群の特徴と判断するよりも資料数の少いのが原因ではないかと推察されるので，さらに調査の上検討したい。

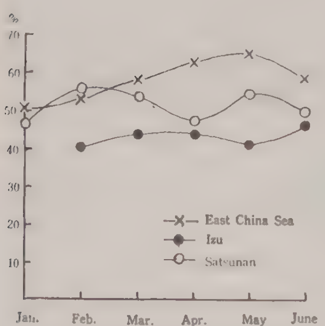


Fig. 3. Monthly variation of the sex-ratio $\left(\frac{♀}{♂+♀}\right)$.

熟度指数: 体長範囲を 3 cm 間隔五階級に分けて，指数平均値の月別変化を Table 1 に，階級内の数が 5 尾を超えるものの平均値の月別変化を Fig. 4 に示した。Fig. 4 によつてまず経年変化をみると，熟度の最大期に多少の遅速はあるが，各海域とも肥大から縮小するまでの変化は時期的に毎年ほぼ定つているようである。すなわち東海南部では 1 月にその値がやや大きくなり，2～4 月に明瞭な山が現われて最大期となり 5～6 月に漸次減少する。薩南では大体東海南部と同様な傾向を辿るが，5～6 月に比較的値の大きいものも残る。伊豆では 2 月にやや大きくなり，3～5 月に山が現われて 6 月も引続き値の大きいものが多い。各海区の 5，6 月の減少は放卵のためとみることができる。

体長別にみると，3 海区とも大型魚ほど指数の大きくなる時期は早い。薩南でこの傾向は顕著である。すなわち 1956, '58 両年の 1 月に 34 cm, 37cm 級の平均指数は 0.5～0.8 で比較的大きいが，小型では全て 0.4

Table 1. Monthly variation on mean value of the gonad index in East China Sea, Satsunan and Izu, 1955~1959.

Locality	Fishing method	Date		Fork-length (cm) 28~31 Mean G_1* (No. of Fish)	31~34 Mean G_1 (No. of Fish)	34~37 Mean G_1 (No. of Fish)	37~40 Mean G_1 (No. of Fish)	40~43 Mean G_1 (No. of Fish)
Izu	long-line, pole and line	1958	Feb.	—	0.21 (8)	0.31 (11)	0.52 (1)	0.82 (1)
			Mar.	—	0.39 (10)	0.75 (8)	—	—
			Apr.	—	0.98 (32)	1.12 (19)	—	—
			May	0.77 (4)	0.64 (6)	0.55 (17)	0.76 (7)	—
			June	0.35 (12)	0.36 (33)	0.27 (3)	—	—
		1959	Mar.	—	1.04 (18)	0.90 (48)	0.80 (6)	—
			Apr.	0.76 (6)	0.98 (9)	0.97 (18)	0.74 (5)	—
			May	0.17 (20)	0.69 (18)	1.05 (39)	1.15 (5)	—
			June	0.06 (5)	0.35 (7)	0.91 (6)	0.82 (11)	—
Satsunan	long-line, pole and line	1955	Feb.	—	0.67 (17)	0.91 (18)	0.95 (13)	1.22 (6)
			Mar.	0.25 (24)	0.77 (6)	1.29 (8)	1.56 (16)	1.47 (11)
			Apr.	0.32 (2)	0.59 (6)	0.52 (8)	0.65 (35)	0.79 (11)
			May	—	0.32 (13)	0.57 (26)	0.59 (65)	0.51 (17)
			June	0.08 (24)	0.08 (18)	0.38 (21)	0.59 (24)	0.32 (3)
		1956	Jan.	—	0.39 (5)	0.56 (10)	0.82 (5)	—
			Feb.	0.12 (15)	0.17 (49)	0.67 (47)	0.52 (45)	0.60 (3)
			Mar.	0.61 (9)	0.61 (31)	0.97 (30)	1.48 (10)	1.42 (2)
			Apr.	—	0.76 (5)	0.69 (7)	0.73 (20)	0.69 (6)
			May	0.17 (23)	0.26 (55)	0.34 (22)	0.87 (30)	1.07 (5)
			June		0.20 (5)	0.22 (30)	0.33 (34)	0.42 (6)
		1957	Mar.	—	0.51 (20)	0.70 (18)	1.55 (8)	1.28 (3)
			Apr.	0.52 (7)	0.50 (17)	0.64 (3)	—	—
			May	0.29 (29)	0.17 (15)	0.24 (8)	—	—
			June	0.18 (34)	0.10 (25)	0.48 (22)	—	—
		1958	Jan.	0.08 (7)	0.09 (16)	0.70 (12)	0.80 (5)	—
			Feb.	—	0.73 (10)	0.70 (40)	0.86 (11)	0.97 (6)
			Mar.	0.62 (2)	0.88 (17)	0.84 (7)	—	—
			Apr.	0.89 (8)	0.97 (30)	0.86 (16)	—	—
			May	0.51 (3)	0.38 (23)	0.59 (5)	0.52 (10)	0.62 (16)
			June	—	0.17 (17)	0.29 (33)	0.50 (18)	0.42 (8)
		1959	Jan.	—	0.29 (21)	0.23 (5)	—	—
			Feb.	0.47 (3)	0.57 (19)	0.80 (28)	0.82 (9)	0.43 (1)
			Mar.	0.68 (6)	0.69 (44)	0.83 (17)	0.85 (9)	0.95 (16)
			Apr.	0.98 (2)	0.67 (24)	0.57 (28)	0.67 (26)	0.55 (5)
			May	0.32 (3)	0.57 (32)	0.41 (54)	0.80 (23)	1.00 (6)
			June	—	0.07 (71)	0.41 (29)	0.34 (21)	—
East China-Sea	pole and line	1955	Jan.	—	0.18 (11)	0.27 (42)	0.20 (21)	
			Feb.	—	0.11 (1)	0.29 (13)	0.26 (11)	
			June	—	0.02 (23)	0.15 (1)		
		1956	Jan.	0.14 (1)	0.22 (59)	0.33 (44)	—	
			Feb.	0.37 (3)	0.60 (19)	0.65 (6)	0.54 (1)	
			Mar.	0.65 (3)	0.74 (10)	1.12 (22)	0.97 (3)	
			Apr.	—	1.06 (2)	1.29 (26)	1.28 (17)	
			May	—	0.08 (45)	0.12 (3)	—	
			June	—	0.05 (40)	0.05 (10)	—	
		1957	Jan.	0.07 (4)	0.25 (84)	0.28 (11)	0.16 (1)	
			Feb.	0.17 (2)	0.80 (60)	0.85 (13)	—	
			Mar.	—	0.57 (32)	0.52 (17)	1.21 (1)	
			Apr.	0.26 (10)	0.37 (57)	0.53 (6)	—	
			May	0.05 (6)	0.10 (39)	0.09 (5)	0.95 (1)	
			June	0.03 (11)	0.04 (36)	0.04 (2)		
		1958	Jan.	0.11 (12)	0.27 (61)	0.55 (27)	—	
			Feb.	0.68 (5)	0.68 (39)	0.84 (53)	1.33 (2)	
			Mar.	0.58 (17)	0.51 (40)	0.38 (15)	0.56 (2)	
			Apr.	—	0.99 (28)	1.01 (47)	—	
			May	—	0.13 (28)	0.22 (5)	—	
			June	0.05 (5)	—	—	—	
		1959	Jan.	0.14 (8)	0.22 (38)	0.19 (5)	—	
			Feb.	0.19 (19)	0.63 (21)	0.66 (10)	—	
			Mar.	0.42 (18)	0.66 (44)	1.10 (12)	0.40 (1)	
			Apr.	—	0.73 (53)	0.85 (45)	0.92 (2)	
			May	0.14 (12)	0.43 (68)	0.78 (19)	—	
			June	0.05 (5)	0.03 (134)	0.77 (7)	—	

* G_1: Gonad index.

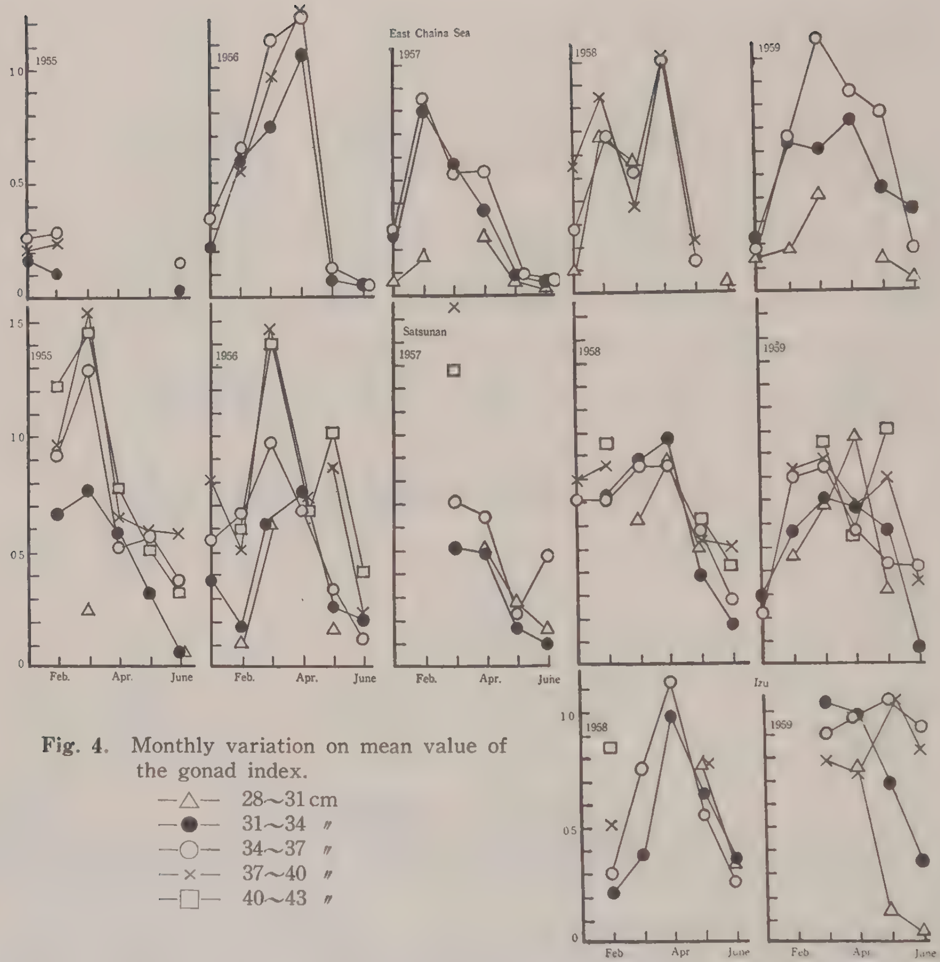


Fig. 4. Monthly variation on mean value of the gonad index.

—△— 28～31 cm
—●— 31～34 〃
—○— 34～37 〃
—×— 37～40 〃
—□— 40～43 〃

以下で小さい。また東海南部の 1958 年の1月に 34cm 級で 0.5 台の指数の高いものも出現している。

群成熟度: 群成熟度の月別変化を Fig. 5 によつてみると，体長 28～33cm 範囲の小型では3海域とも3～4月に 60% 以上で最大期となり，東海南部の2月，伊豆の5月が高率で，南でやや早く北ほど遅れる傾向がみられる。また東海と薩南は最高時でもその値は 60% 程度にとどまつているが，伊豆は 95% ときわめて高率を示している。これについては，南方は漁場範囲が広く漁獲対象となる魚群団が多いため成熟段階の異る個体が漁獲され，伊豆は水温のごとき物理的な環境条件が 3～4 月に急激に好転（後述）することによつて，成熟が促進されることも原因の一つではないかと考えられる。

34cm 以上の大型群の成熟度は薩南，伊豆では3月，東海南部では4月に最高となり，地理的な漁場分布からみると，時期的に矛盾が感じられるが，いずれの海域も 90% 以上に達し，ほとんど全個体が成熟していることがわかる。特に注目されることは薩南で1月にすでに 60% が成熟しており，伊豆の2月に少数ながら成熟個体が出現していることである。後者は三宅島周辺漁場の標本であり，伊豆海域でも南部ではかなり早く成熟していることが窺知できる。伊豆では6月にも他海域に比較して群成熟度は高い。

以上記述した結果からつぎのようなことがいえるのではなかろうか。

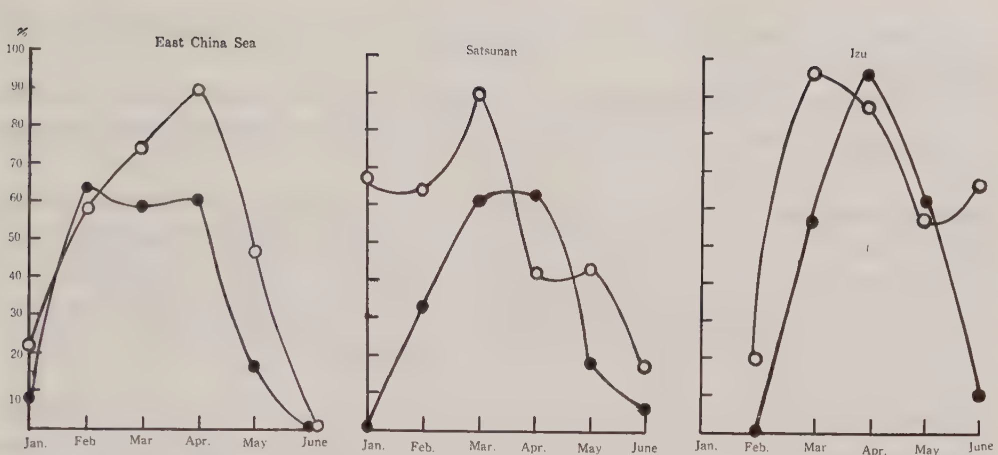


Fig. 5. Monthly variation of group maturity in East China Sea, Satsunan and Izu.
—●— 28〜34 cm ♀ —○— 34〜43 cm ♀

東海南部では1月が産卵始期で少数の魚群が産卵を始め，2〜4 月は産卵盛期となつて大多数が産卵に加わり，5月中にほとんど全個体が産卵を終える。産卵始期は国分[11]，辻田・近藤[12]，矢部[13]，田ノ上[3]，江波[14]等の調査結果とほぼ一致している。また村上[15]，国分[11]等の調査で東支那海の北緯 30° 以北海域において，6月に産卵が行われていることが明らかにされているので，回游経路からみると，南部で産卵を終らなかつた魚群の中には北上移動後産卵を続ける個体があるものと判断される。なお南部の島嶼周辺等に薩南におけるような超大型魚群が棲息しているとすれば，初期の産卵に加わる数はかなり多いものと予想される。薩南では超大型魚群の中で1月に産卵しはじめる個体があり，2〜4 月は産卵盛期となる。5月には引続き多数が産卵し，6月に残りの少数の産卵が行われて終期となる。

Table 2. Number and total-length of mackerel larvae collected in East China Sea, Satsunan and Izu, 1955〜1959.

East China Sea

Date		St.	W.T. °C	T.L. mm	No.
1955	Feb. 23	28°−07′N 128°−59′E	19.0	34	1
1957	Feb. 13	26°−38′N 124°−29′E	18.1	6.5 〜17.0	3
	Feb. 13	27°−00′N 124°−17′E	18.8	10.0 〜14.5	4
	Feb. 13	27°−29′N 124°−28′E	17.2	11.5	1
	Feb. 14	27°−07′N 126°−38′E	20.2	7.5	2
	Feb. 18	28°−00′N 126°−27′E	20.1	10.5	1
	Apr. 28	28°−42′N 127°−42′E	23.0	8.5	2

Izu

Date		St.	W.T. °C	T.L. mm	No.
1959	Apr. 1	34°−36′N 139°−24′E	17.8	—	1
	Apr. 22	34°−10′N 139°−29′E	20.3	—	9

Satsunan

Date		St.	W.T. °C	T.L. mm	No.
1958	Feb. 15	30°−56′N 130°−57′E	17.1	5.5, 8.3	2
	Feb. 15	30°−57′N 131°−05′E	18.0	5.5	1
	Mar. 5	31°−06′N 130°−41′E	17.5	9.0 〜11.8	3
	Apr. 19	30°−53′N 130°−45′E	18.0	9.0	1
1959	Feb. 12	30°−57′N 131°−05′E	17.3	6.7	1
	Feb. 12	30°−51′N 131°−08′E	17.2	6.1	1
	Mar. 4	30°−56′N 130°−52′E	18.8	5.3〜8.9	3
	Mar. 5	31°−22′N 130°−34.5′E	18.5	4.9〜8.0	5
	Apr. 9	31°−17.4′N 130°−46.6′E	18.6	5.8	1
	May 28	30°−53′N 130°−45′E	20.0	5.9〜6.0	2
	May 30	30°−53′N 130°−45′E	22.8	5.9〜7.9	4

伊豆では南部の三宅島周辺で2月末頃に大型魚群の産卵がはじまり，3～5月は産卵盛期となる。大型魚は6月まで産卵する数が多い。

したがつて東海南部から伊豆周辺までのゴマサバは，南部では1月頃から産卵しはじめ，3～4月には各海域とも産卵盛期となり，南部では5月で終了するが，薩南海域以北では6月まで産卵していることが窺知できる。

稚仔魚と採集時の水温: 採集された稚仔魚を Table 2 でみると，東海南部，薩南では2月 12 日頃には全長 6～10 mm 程度の仔魚が 17°C の水温帯で発見されており，東海では4月末まで，薩南では5月末までに 10～14 mm 程度のものが毎月採集された。これだけでは勿論資料が少いが，一応前述の産卵を実証するものであり，1月末頃が産卵始期となることはほぼ確実である。また薩南の産卵始期が東海に遅れるこりはないという考えは，妥当性を欠くものでないと思われる。伊豆海域については採集数が少いので確定的なことは今後の調査にまたねばならない。

産卵期の水温範囲: 漁獲水温と表面水温の変化は Fig. 6 の通りである。これによつて各海域の産卵期の漁獲水温を漁場別にみると，東海は 17～24°C，薩南は 16.9～24.1°C，伊豆は 17～23°C となり伊豆海域がやや低いが，3海域とも 17～24°C の範囲で産卵が行われることが窺知できる。産卵盛期の水温は東海南部では 18～23°C 程度となつて辻田・近藤[12]，田ノ上[14]等の報告と変らない。薩南では 17～23°C で従来の調査結果[14]より低めであるが，これは延縄で漁獲される超大型魚群の棲息水温が低いためである。

Table 2 の稚仔魚の採集水温は 17～22.5°C であつて，大部分が産卵群の漁場周辺で発見されており，ふ化後の経過日数は左程長くないと予想されることから産卵水温との偏差は少いものと思われる。

すなわちゴマサバは漁場の地理的位置の相違にかかわらず，17～23°C の水帯で産卵し，南部の東海南部海域ではやや高く，18°C 以上で大多数が産卵することが窺知できる。

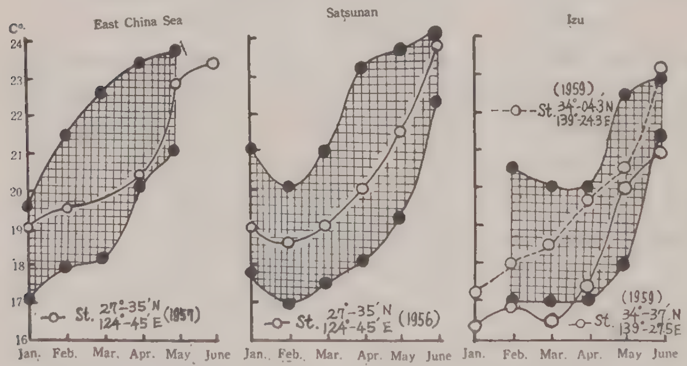


Fig. 6. Seasonal change of the water temperature at fishing and surface water temperature in East China Sea, Satsunan and Izu waters.

Water temperature at fishing
—○— Surface water temperature

Fig. 6 の表面水温は3海域の漁場周辺の定点における毎月の観測で得られた水温の変化を示したものである。この水温変化曲線から各海域の水温最低期をみると，東海は1月，薩南は2月，伊豆のうち大島周辺は 2～3 月，三宅島周辺は1月で，高緯度地方程時期的な遅れがみられる。しかし三宅島周辺は黒潮の影響によつて東海南部と変らない。

この最低水温期から上昇のはじまる時期は，各海域に棲息する魚群の生殖腺の肥大する時期とよく合致しておる。

伊豆の大室出し漁場におけるように，水温が 15～16°C に低下する海域では 17°C 程度に昇温した後に成熟しはじめるが，東海南部，薩南および三宅島周辺のごとく，年間の最低温期においても 17°C 以上となつている海域では，最低温期から水温の上昇する時期に成熟がはじまることがわかる。

水温分布からみると，冬季三宅島およびその南部海域にゴマサバが棲息越冬するならば，当方面の産卵始期は東海南部とほとんど変らないものと予想される。

要　　約

東支那海南部 (29°N 以南), 薩南, 伊豆の各漁場のゴマサバの産卵期, 産卵水温を生殖腺熟度指数と採集稚仔魚および海況等から推定し, つぎのごとき結果を得た。

（1） 東支那海南部においては, ゴマサバは1月末から5月の間に, 18～23°C の水温範囲で産卵し, その盛期は 2～4 月である。

（2） 薩南では1月末から6月の間に 17～23°C の水温帯で産卵し, 1月には 34 cm 以上の大型魚によつて産卵が行われる。当海域の産卵盛期は 2～4 月である。

（3） 伊豆漁場では2月末頃から6月の間に 17～23°C の水温範囲で産卵が行われ, 2月末頃には三宅島周辺で 37 cm 以上の大型魚群のうちで産卵するものがある。産卵盛期は 3～5 月である。

（4） 東支那海南部, 薩南, 三宅島周辺においては, ゴマサバは水温の最低期から昇温しはじめる時期に成熟しはじめる。

終りに, 御指導を賜わつた金森政治教授, 今井貞彦博士, 御援助を受けた江波澄雄講師, 玉利達夫氏, 資料蒐集や, 漁場調査に種々御便宜を与えられた東京都大島水産試験場長森田末歳氏, 鹿児島水産試験場長西田稔氏, 同漁業部長上野茂氏に深謝の意を表する。また資料の整理に協力された鶴田欽也, 西井健次の両君, 山下博子氏に厚く御礼申上げる。

文　　献

1) 水 産 庁: 対馬暖流開発調査報告書 (第 1, 4 集), (1958).
2) 鹿児島県水産試験場: 対馬暖流開発調査報告書 III, (1957).
3) 田ノ上豊隆: 鹿大水産学部紀要 **5** 巻, 42 (1956).
4) ————: 対馬暖流域のゴマサバの分布回游, 鹿大水産学部プリント報告 (1957).
5) 江波澄雄・相川広秋: サバの資源生物学的研究, 対馬暖流調査報告 **3** 号, 九州大学水産学教室 (1956).
6) 東京都大島水試: 海況と漁況, (1958), (1959).
7) 鹿児島水産試験場: 対馬暖流開発調査報告書 **I**, (1957).
8) 愛媛県三瓶湾漁協: 鯖漁業統計綴 (1956), (1957).
9) 鹿大水産学部: 対馬暖流開発調査資料第 **1～4** 号, (1955～1957).
10) 金森政治外: 対馬暖流開発調査発表論文, 水産庁 1 (1957).
11) 国分三郎: 対馬暖流開発調査論文集, 水産庁 147 (1954).
12) 辻田時美・近藤正人: 西海区水研研究報告 14 号, (1958).
13) 矢部　博: 南海区水研業績集, 第 **1** 号 (1953).
14) 江波澄雄: 対馬暖流開発調査報告書第 **4** 集, 水産庁 39 (1958).
15) 村上子郎: 対馬暖流開発調査発表論文, 水産庁 157 (1954).

漁獲直後の処理法が肉質変化に及ぼす影響の研究―V.

魚筋肉の乳酸量

土屋靖彦・国井　清

(1959 年 12 月 10 日受理)

STUDIES ON THE INFLUENCE OF TREATMENTS IMMEDIATELY AFTER CATCHING UPON THE QUALITY OF FISH FLESH—V. DETERMINATION OF LACTIC ACID IN FISH MUSCLE.

Yasuhiko TSUCHIYA and Kiyoshi KUNII*

The development of lactic acid in fish is not only influenced by the degree of muscular exercise in life, but also by the condition of treatment after death. This report deals with theresults conducted by the authors on the determination of lactic acid in fish muscle. The results are shown in Tables 1, 2 and figure 1 and summarized as follows:

(1) The dorsal muscle of bonito, *Katsuwonus vagans*, showed the highest value of 1,170 mg. per cent of lactic acid, while the ventral muscle of flat fish, *Xystrias grigorjewi*, showed the lowest 34 mg. per cent among 14 kinds of fish purchased from the fish shops at Sendai City, Miyagi Prefecture.

(2) The muscle of the fish employed in this experiment is roughly classified into three groups as red, medium red and white muscle fish. The amount of lactic acid was found in the range of 283 to 1,170 in the red muscles of bonito, tunny, sardine etc., 283 to 639 in the medium red in carp, *Clupanodon punctatus* and *Lateolabrax japonicus* and 34 to 185 mg. per cent in the white in codfish, flatfish etc. These differences are discussed from on ecological point of view.

(3) The lactic acid content in dark muscle is generally lower than that in normal one. This fact is supposed to be due to the difference of the muscular function, namely the dark muscle is not well-developed as well as normal muscle and its function is similar to that of internal organ.

(4) The time to attain the highest concentration of lactic acid in the muscle of carp killed by being stabbed in the medulla of the neck immediately after catching was 55 hours in storage at 0°C and 25 hours at 10°C, while in the case of the fish killed after being left alone and weakened in air at room temperature for 5 hours it was 5 to 15 hours at 0°C and 1 to 5 hours at 10°C.

前　書　き

魚類筋肉の乳酸は母体のグリコーゲンと関連して消長するから，生活時の筋肉活動の影響はもとより，死後においても筋肉のおかれる状態の影響を受ける。従来魚肉について行われたところは漁獲法については，山田ら[1]によりサバの一本釣りは魚の蒙る苦悶の度が少く，乳酸の生成が少いのに対して，大謀網で獲つたアジは苦悶が多く乳酸の生成量が大きいと報じている。また大野ら[2]によるとソウダカツオでは水揚げ後の殺し方で乳酸の生成速度が異ること，すなわち延髄刺殺が苦悶が少く解糖作用の遅れるのに対して，自然放置死は苦悶が甚しく乳酸の生成が早いこと，さらに断頭死はこの中間であるとしている。以上いずれにしても魚を苦悶させるか，させないかによつて解糖作用の進み方に違いが見られ，乳酸生成量の多寡またはその最大生成量に達するまでの時間に遅速が生ずると考えられる。さらに放置温度と乳酸量との関係については

* 東北大学農学部 (Lab. Marine Food Tech., Fac. Agr., Tohoku Univ.).

SHARP[3] によると 0°C で氷蔵した haddock は2日まで乳酸の生成が増すが，−10°C では増減がほとんど見られず，15°C のものは 0°C より乳酸生成量が大きいという。また LOCKE[4] によると氷蔵魚は3日後に乳酸が最高値に達し，以後1週間それが持続した後に減ずるのを見ている。かつその最高値は魚によつてちがい，haddock 0.34%，pollock 0.33%，cod 0.17%，squirrel hake 0.13% であつた。

われわれはこれまでに表題のような漁獲直後の処理法とそれが魚の肉質におよぼすところの問題について種々の観点から研究して来たが，乳酸の消長面からは未だ検討していない。上述のように乳酸は少くとも筋肉の活力，惹いては肉の新鮮度と関係をもつことが明かであるから，つぎの点について研究することにした。すなわち普通に市販されているいわゆる市販魚の多種類について，その筋肉内の乳酸がどの程度あるかを定量して見ること，つぎにその一部のものを室温にさらに放置した時，乳酸が如何なる消長をとるかを知ること，さらにコイを材料として殺し方および放置温度の影響を見ることの3点である。以下その結果について報告するが，それに先立つて本研究費の一部が農林省漁業応用試験研究費によつて支弁されたものであることを記して，ここに謝意を表する。

実 験 の 部

(1) 実験材料

市販魚は仙台市の魚店から随時購入した。ただしコイは晩秋から初冬にかけて，白石市外の養鯉場から求め1週間，実験水槽に放つておいたものを用いた。体重 71～113g，体長 14.0～18.2cm.

(2) 乳酸定量法

試料 5g を海砂 3g と磨砕して 10ml の蒸溜水で3時間，10°C で抽出し，その抽出液 1ml については常法によつて亜鉛および銅による除蛋白，除糖後 GORDON および QUASTEL[5] によるセレン酸化を行つて，乳酸をアセトアルデハイドとなし，さらに Conway 拡散装置を用いて，それを $NaHSO_3$ 中に拡散吸収させて，Jodometry で測定した。

(3) 実験結果

(A) 市販魚肉の乳酸量

仙台市内の魚店から随時求めた魚について，筋肉の部位別に乳酸を定量した。結果は Table 1 のようである。

(B) 市販魚を室温に放置した時の乳酸の消長

Table 1. Content of lactic acid in fish muscle.

Kind of fish	Part	Content of lactic acid (mg·%)
Tunny, *Thunnus orientalis*	dorsal part ventral 〃 dark muscle	1,122 1,100 888
Bonito, *Katsuwonus vagans*	dorsal part ventral 〃 caudal 〃 dark muscle	1,170 712 1,050 685
〃 frozen	dorsal part ventral 〃 caudal 〃 dark muscle	725 600 739 460
Sardine, *Sardinia melanosticta*	dorsal part caudal 〃 dark muscle	693 603 620
〃 〃 〃	dorsal part dark muscle	492 284
Saury, *Cololabis saira*	dorsal part ventral 〃 caudal 〃	552 283 639
〃 〃 〃	dorsal part dark muscle	606 301
Clupanodon punctatus	dorsal part ventral 〃 caudal 〃	552 283 639
〃 〃	dorsal part	440
Lateolabrax japonicus		384
Carp, *Cyprinus carpio*		275
Ditrema temmincki		67
Sebastichthys sp,		142
Sillago sihama		79
Alaka codfish, *Gadus macrocephalus*		141
Flatfish, *Xystrias grigorjewi*	dorsal part ventral 〃	38 34
Flounder, *Palalichthys olivaceus*		142
Dogfish, *Squalus suckleyi*		185
Fin whale, *Balaenoptera physalus*		871

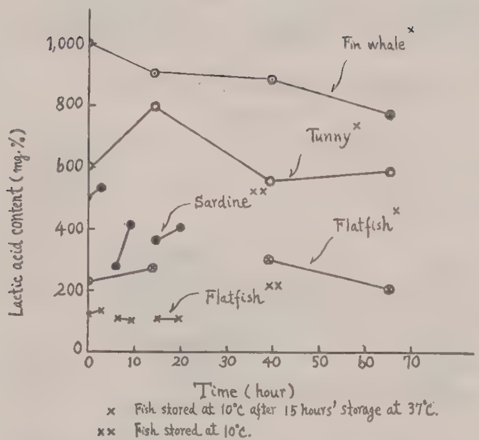


Fig. 1. Change of lactic acid content of fish flesh stored at 10°C

市販魚の一部マグロ，イシカレイおよびナガスクヂラについて，始めの 15 時間を 37°C，その後を 10°C に放置した場合と，イワシおよびイシカレイについて 10°C に放置した時の乳酸量の変化をしらべた。ただしクヂラおよびマグロ肉を除いて小型魚は個体差を除くために，まず魚体左側筋肉の乳酸を定量し，つぎにその右側を試料とする。さらにつぎの試料として別個体の左側を，ついでその右側というように順次定量を行つた。その結果を纏めると Fig. 1 のようである。

Table 2. Change of lactic acid content in carp which was killed by different methods.

Killing method	Sample No.	Time stored	Lactic acid content of carp muscle (mg·%) 0°C	10°C
Killed by stabbing in medulla immediately after catching	1	0 1	225 200	203 188
	2	5 10	125 207	165 158
	3	15 20	186 195	148 140
	4	25 30	207 100	312 303
	5	40 55	216 339	221 228
Killed by stabbing in medulla after leaving in air for 5 hours	1	0 1	120 198	197 312
	2	5 10	343 257	290 257
	3	15 20	343 284	208 192
	4	25 30	207 248	212 199
	5	47 59	162 138	168 132

（B） 殺し方および放置温度を違えた時のコイ肉乳酸量の消長

体重 100 g 前後のコイ 20 尾の中，10 尾を水揚げ直後にメスで延髄刺殺し，他の 10 尾をバット内で約 5 時間放置，苦悶させた後，上と同様刺殺する。つぎにそれぞれをさらに 5 尾宛に分け，乾燥をふせぐため大型ポリエチレン袋に入れて，10 ± 2°C の室と 0°C の冷蔵庫内にそれぞれ 55～60 時間放置し，その間の乳酸の消長をしらべた。ただし採肉個所は背部とし，血合肉はのぞいた。また（B）と同じく一個体の左，右，つぎの個体の左，右というように分析して行つた。その結果は Table 2 のようである。

考　　察

仙台で普通に求められる魚の筋肉内乳酸量はカツオ背肉の 1,170 mg% を最高とし，ムシカレイ腹肉の 34 mg% を最低とした (Table 1)，これによつて魚種間に著しい乳酸量の違いのあることが見られるが，今それらの取り扱つた魚 14 種について，さらに白味肉の魚（タナゴ，メバル，キス，ムシカレイ，ヒラメ，マダラ，アブラサメ），赤味肉の魚（カツオ，マグロ，イワシ，サンマ）およびその中間型（セイゴ，コノシロ，コイ）と分けて見ると，白味肉魚は 34～185 mg%，赤味肉魚 283～1,170 mg%，中間型は 283～639 mg% となり，少くとも赤味肉魚乳酸の最高値は白味肉魚のそれより高いことが判る。これは実験（B）で扱つたマグロ，イワシおよびイシカレイを加えるとさらにその例数を増すことになる。また LOCKE の haddck 340 mg%，pollock 330 mg%，cod 170 mg%，squirrel hake 130 mg% もまた白味肉の例であるが，上述の範ちゆうに入る。一方この現象は巷間に赤味魚肉は酸性で酸味を感ずるが，白味魚肉はそれがないといわれることと符節を合せるようであるし，さらにまた前者が一般に游泳型で運動を活潑するのに対して，後者

が底棲型で運動が不活潑なことと関連があるように思われる。勿論，筋肉内の乳酸は解糖作用の違い，特にその遅速の差によつて同一魚でもその値にかなりの開きが出ることは当然であるが，ここでは以上の理由を考えてもなお魚種によつてその筋肉自体の運動エネルギー差というものがあるのではないかと考え度い。すなわち上記のように赤味肉の魚は運動を活潑にする関係上，そのエネルギー源であるグリコーゲンが白味肉の魚より，始めから多いというようなことがあるのではなかろうか。この見解については，しかしながら今回はグリコーゲンを定量していないので，仮説の域を出ないが，機会を見て改めて実証し度いと考える。

つぎに例数は多くないが，同一魚種でも乳酸含量に個体差のあることが，Table 1 または Fig. 1 から認められる。さらに同一魚体の中でも筋肉の部分によつて差のあることも認められる。特に血合肉と並肉との間にはかなりはつきりした差のあることである。最近の研究[6]によると，血合肉は並肉と違つて臓器的性格が強いといわれる。したがつて筋肉本来の役柄の1つである運動機能の面からすると，血合肉は並肉より劣ることが考えられ，それがグリコーゲン保有量，ひいては恐らく乳酸量の違いということに関係してくるのではないだろうか。あるいはまた臓器的であるがため，乳酸のグリコーゲンへの再合成が行われると見られないでもない。興味ある事実としてここに指摘するものである。

つぎに市販魚を室温前後に放置した時の乳酸消長の動向は，色々の経歴をもつた魚種であるが大体つぎの3つの傾向になる (Fig. 1)。すなわち減少一方のもの（ナガスクヂラ），増加一方のもの（イワシ），それといくらか増加した後で減少するもの（イシカレイ）の3つである。魚はグリコーゲンを完全に消耗した段階で獲られることはまずないから死後の解糖作用によつて乳酸が増す傾向のものは未だ肉に活力が残つているもの，一方減少過程にあるものは，漁獲後の時間がたつても早や活力のなくなつている筋肉と考えられよう。そうするとこの場合イワシは比較的新しい肉であり，マグロおよびイシカレイはそれよりいくらか劣る状態の肉，さらにナガスクヂラは一層活力の落ちた古い肉というように判じられる。

なお Fig. 1 に示されていないが，イシカレイおよびサンマについてつぎのような実験を行つたことを附け加えておく。すなわちカレイおよびサンマを室温に無処理のまま約1月間放置し，その間に魚体は一時腐敗し，さらに乾燥してしまつたが，それの乳酸量を測つたところ，イシカレイ 18mg%，サンマ 36mg% がなお残つていた。このように乳酸の完全な分解消失には意外な時間のかかる場合があるようである。

つぎにコイを水揚げ直後に延髄刺殺したものと，数時間室温で苦悶させてから刺殺したものとでは，解糖作用の進み方が違い，0°C 保存では疲労魚が約5乃至15時間，直殺魚は約 55 時間，一方 10°C 保存では疲労魚が約1乃至5時間，直殺魚が 25 時間後に，乳酸生成量の最高値が来て，結局この場合，疲労の少い魚は多い魚の数倍解糖作用の遅れることが見られた。これはソウダカツオについて行つた天野らの結果と一致をしている。また山田らによると苦悶魚がそうでないものより乳酸生成量が多いということを報じているが，今回の実験によつてもそれに似た傾向が見られるようである。苦悶によつて保有するグリコーゲンの分解が行われるだけでなく，一方でグリコーゲンを合成し補給する面があるのであろうか。もしこのような考え方が成立つとすると，さらにつぎのようなことも一応は注目されよう。すなわち Table 2 の数字をよく見ると，乳酸の最高値に達するまでに小さいながら，いくつかの増減が見られるが，それは実験誤差というよりは未だ筋肉が活きていて，解糖作用の進行する反面，その逆の過程もその間織り込まれて来ているのではないだろうかと。しかし，これについては勿論今後の研究によつて明かにされなければならない。

要　　約

以上得られたところを要約するとつぎのようになる。

(1) 市販される 14 種の魚筋肉の乳酸量をしらべたところ，最高はカツオ背肉の 1,170 mg%，最低はムシカレイ腹肉の 34 mg% であつた。

(2) カツオ，マグロ，サンマ等の赤味肉の乳酸含量は 284～1,170 mg%，カレイ，タラ，サメなどの白味肉のそれは 34～185 mg%，中間型のセイゴ，コイなどは 283～638 mg% であつた。これらの差異を魚の生態的面から論じた。

（3） 血合肉の乳酸量は普通肉のそれより少いことを明かにし，同時にそれが血合肉が並肉に較べて運動機能の点で劣り，臓器的性格が強いためであろうと推論した。

（4） 水揚げ直後に延髄刺殺したコイ肉の乳酸量が最高値に達するまでの時間は 0°C 保存では約 55 時間，10°C で 25時間かかるのに対して，水揚げ後空気中に苦悶 5 時間させた後殺したものは 0°C で 5 乃至 15 時間，10°C で 1 乃至 5 時間と数分の一以下の早い時間であつた。

文　　献

1) 山田紀作・新間彌一郎： 本誌，**14**，41 (1948).
2) 天野慶之他： 本誌，**19**，487 (1953).
3) J. G. Sharp: *Dept. Sci. Ind. Res. Rept. Food Invest. Bd.*, **201**, 1932 (1933); *Proc. Roy. Soc. B*, **114**, 506 (1934).
4) R. M. Locke: *Comm. Fish. Ab.*, **7**, 3 (1954).
5) J. J. Gordon, and Quastel, J. H.: *Bioch. J.* **33**, 1332 (1939).
6) 堀田一雄・梅原清彦： 生化学，**26**，423 (1954).

枯草菌胞子の発芽・発芽後生育に対する防腐剤の影響について

谷 口 忠 敬

(1959 年 12 月 12 日受理)

INFLUENCE OF THE PRESERVATIVES ON THE SPORE GERMINATION AND POSTGERMINATIVE DEVELOPMENT OF *BACILLUS SUBTILIS*

Tadataka TANIGUTI*

The influence of the food preservatives and some other chemicals on the germination and the postgerminative development of *Bacillus subtilis* spores has been studied. The inhibitory effect of the reagents on the germination was determined by the nephelometric method. The influence of the reagents on the postgerminative development was determined by Warburg technique or by measurements of the methylene blue reduction time. The results obtained from the experiments are as follows.

1) The reagents, which were shown in the table 1, did not inhibit the germination. But those reagents were effective as inhibitor of the postgerminative development.

2) Sorbic acid had little or no effectiveness at pH 7.0. But at pH 6.0, it had apparent inhibitory effect on the germination and the postgerminative development in the concentration range from 0.1 to 0.2 per cent. The effect of sorbic acid on the germination was greater at pH 5.5 than at pH 6.0 (Fig. 1～4).

3) 8-hydroxyquinoline inhibited the germination at 4 mM concentration, but that concentration was about four hundred times as high as the concentration which was required to inhibit the postgerminative development (Fig. 5 and 6).

4) The action of the reagents which were shown in the table 1 and of sorbic acid on the germination was not influenced by the presence of tween 80, but the inhibitory effect of 8-hydroxyquinoline on the germination slightly decreased in the presence of 0.5 per cent tween 80 (Fig. 5).

緒 言

燻製品類はその加工副原料である澱粉[1)]・香辛料等[2)]に由来する主として *Bacillus* 属細菌によつて腐敗する。したがつてこれら副原料を微生物学的に清潔化することが望ましく，この見地から澱粉について塩酸，アルコール処理[3)]，塩素溶液による処理[4)]が報告されている。しかし実際的にはいろいろ問題があり，胞子を致死させることは難かしいように思われる。この副原料を微生物学的に清潔化する試みに関連し，まずその対照となる胞子におよぼす食品保存料等の影響について試験して見た。食品保存料の大部分は発芽後生育を阻害するが[5)]，薬剤の胞子に対する静菌効果は生育細胞の発育防止よりも遙かに低濃度で発効するともいわれ[6)]，また清水氏等[7)]は加熱時に殺菌剤が存在すると一層効果的に作用することを明らかにされている。

著者は食品保存料と他の若干の薬品が枯草菌胞子の発芽と発芽後の生育に与える影響および，それらの有効濃度を比較検討した結果，多くの食品保存料は発芽にほとんど抑制効果がなく，発芽後生育に至つて有効に阻害すること，ソルビン酸が酸性域で発芽阻害をすることおよび薬品の種類によって両過程に対する作用とその有効濃度が相違することを確かめたので報告する。

* 長崎大学水産学部 (Fac. Fish., Nagasaki Univ.).

実 験 方 法

1. 供試菌株とその胞子懸濁液の調製:

教室所蔵の *Bacillus subtilis* を普通肉汁寒天で 30°C, 7日間平板培養した後にその胞子を集めホモゲナイズして胞子塊を崩した。蒸溜水で6回洗滌（3500γ/m, 15分間宛遠心）し，鏡検してほとんど全く胞子であることを確かめてから再び蒸溜水に懸濁した。冷蔵庫に貯え必要に応じ供試した。胞子数の測定は Thoma 血球計によつた。

2. 発芽・発芽後生育に対する薬品の影響の試験法:

発芽と発芽後生育に対する薬品の影響はそれぞれ別の方法を採用した。発芽率の測定には胞子懸濁液の濁度減少法[8,5]を用いた。基本培地の発芽に必要な栄養源としては予め試験して求めた最低濃度，すなわち 0.25% Casate を使用した。発芽後生育に対する薬品の影響は Warburg 検圧計によつて細胞懸濁液の酸素吸収量を測定する方法を用いた。またメチレンブルー 4×10^{-4}% を含む培養液 5 ml を径 1.5 cm の試験管に入れ静置培養し，発芽後生育に伴ない細胞が色素を還元する時間を測定する方法も使用した。なお発芽後生育を試験する場合には 0.1% 葡萄糖を基本培地に補足した。

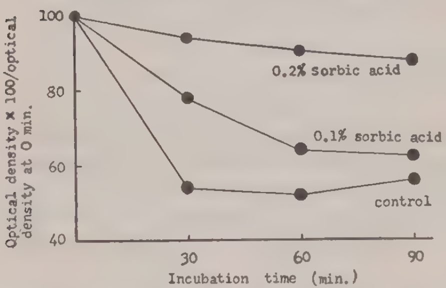


Fig. 1. Effect of sorbic acid on the spore germination of *Bacillus subtilis*. Content of culture tube: 1 ml 1.25% casate, 1 ml 2/15 M phosphate buffer (pH 6.0), 2 ml sodium sorbate solution and 1 ml spore suspension (heat activation, 65°C 15 min.; spore count, 5×10^8/ml). Incubation temperature: 30°C.

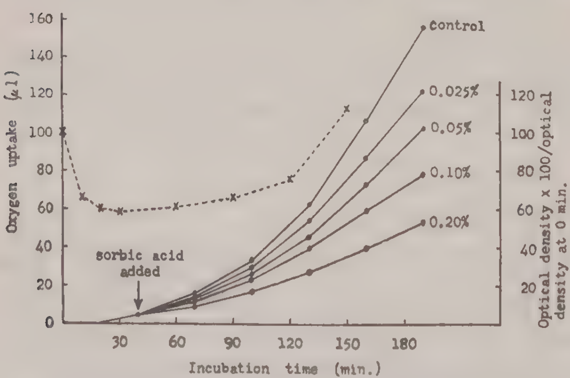


Fig. 2. Effect of sorbic acid on the postgerminative development of *Bacillus subtilis* spores.

●——● Oxygen uptake. Per cent indicates the concentration of sorbic acid.

×····× The change in optical density of the culture which does not contain sorbic acid.

Content of Warburg vessel: main chamber, 0.3 ml 2.5% casate, 0.3 ml 1.0% glucose, 0.6 ml 2/15 M phosphate buffer (pH 6.0) and 0.6 ml spore suspension; side arm, 1.2 ml sodium sorbate solution; center cup, 0.2 ml 20% KOH. Incubation temperature: 30°C.

実 験 結 果

1. ソルビン酸の発芽および発芽後生育に対する影響:

まず，発芽に対する作用を胞子懸濁液の濁度減少法によつて試験した結果，ソルビン酸は発芽に対して中性ではほとんど作用しなかつた。しかし酸性側では発芽抑制の効果が認められ pH 6.0 で得た濁度減少は Fig. 1 のごとくである。0.25% Casate を基本とした対照では 30〜60 分で発芽が終るけれどもソルビン酸が存在すると濁度減少すなわち発芽が遅延し 0.2% ソルビン酸では著しく抑制されている。しかし濁度は除々に減少して行くから発芽の完全な阻害とは認められない。

つぎに発芽後生育に対する影響を見た結果は Fig. 2 に示した。濁度減少から見ると 30 分で発芽が終了しその後は発芽後生育の段階に入る。40 分後に加えたソルビン酸は図のごとく濃度増加とともに発芽後生育を抑制している。また発芽と発芽後生育を抑制する濃度には余り差はないようである。ソルビン酸が発芽および発芽後生育を同濃度で抑制するとすれば胞子懸濁液に最初から加えて発芽自体を抑制した場合の方が一層有効であると考えられる。これ

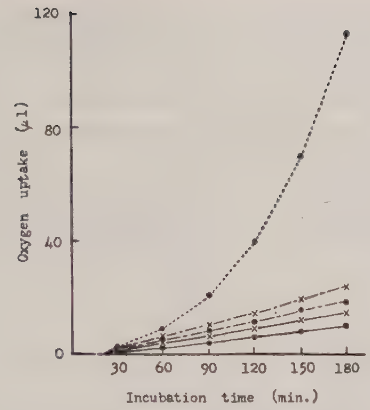


Fig. 3. Effect of sorbic acid addition previous to the germination on the germination process of *Bacillus subtilis* spores (at pH 6.0). ●····● control. ×-·-× 0.1% sorbic acid (added at 0 min.). ×——× 0.1% sorbic acid (added at 30 min.). ●-·-● 0.2% sorbic acid (added at 0 min.). ●——● 0.2% sorbic acid (added at 30 min.).

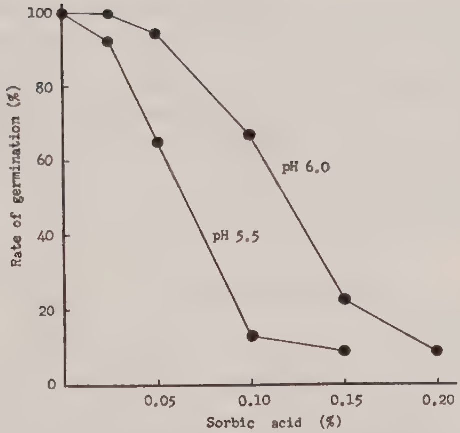


Fig. 4. Effect of pH on the inhibition of the germination of *Bacillus subtilis* spores by sorbic acid (60 minutes culture).

を確かめるために胞子の発芽前と発芽後に加えた場合を比較したところ，Fig. 3 のように発芽前にソルビン酸を添加した方が一層有効であつた。

ソルビン酸は *Clostridium* 属細菌やカタラーゼ陰性の乳酸菌には発育阻止効果[9,10]がないが，他の微生物には比較的に広い抗菌スペクトルを持つ。胞子発芽の抑制についてはまだ報告されていないようである。発育阻止剤としてのソルビン酸の効果を支配する主要因子は培地の pH で中性ではほとんど阻止効果はない[11]。その効果は非解離酸に基くものであり，低 pH ほど有効に作用するといわれる。胞子発芽に対する場合も Fig. 4 のように pH 6.0 よりも pH 5.5 においてその作用は大であつた。

2. オキシン (8-hydroxyquinoline) の発芽および発芽後生育に対する影響:

オキシンは抗黴剤として使用され POWELL[12] によつて発芽阻止の効果が確かめられている。発芽と発芽後生育の阻害濃度を比較すると有効濃度に非常な相違がある。濁度減少法によつて測定した発芽の阻害には

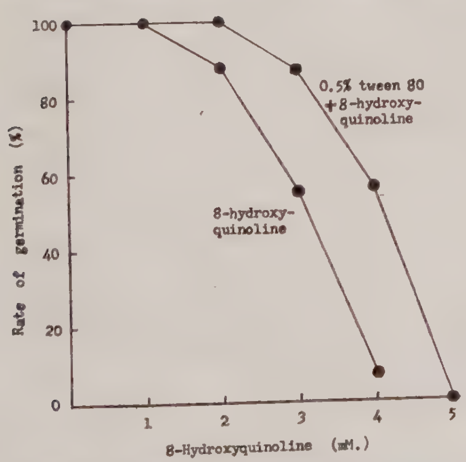


Fig. 5. Effect of 8-hydroxyquinoline on the germination of *Bacillus subtilis* spores. and influence of tween 80 on the effect of 8-hydroxyquinoline (60 minutes culture, at pH 6.0).

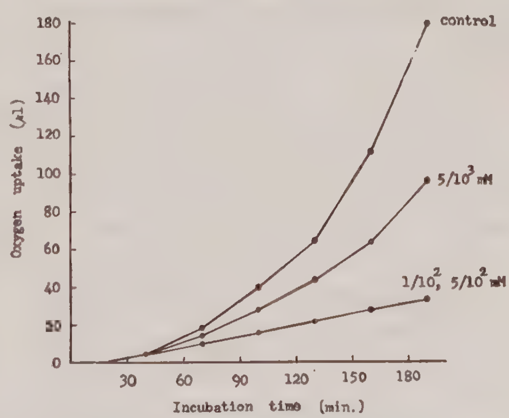


Fig. 6. Effect of 8-hydroxyquinoline on the postgerminative development of *Bacillus subtilis* spores (at pH 6.0).

pH 6.0, 60 分間作用させた場合に 4mM で 90%以上の発芽阻害が見られた (Fig. 5)。一方発芽後生育には Fig. 6 に示したごとく 0.01mM でほとんど完全に阻害された。

Table 1. Effect of 2-methyl-1, 4-naphthoquinone, 5-nitro-2-furfuryl acryl amide, dehydroacetic acid, boric acid and chlortetracycline on the germination process of *Bacillus subtilis* spores.

Preservative	Concent. (%)	Inhibition of germination	Inhibition of postgerminative development
2-Methyl-1, 4-naphthoquinone	0		7.0**
	5×10^{-4}		3.7
	1×10^{-3}		3.0
	5×10^{-3}		0
	15×10^{-3}	n. i.* (at pH7.3)	0 (at pH 7.3)
5-Nitro-2-furfuryl acryl amide	0		7.0
	1×10^{-3}		3.8
	5×10^{-3}		3.2
	1×10^{-2}		1.8
	5×10^{-2}		0
	1×10^{-1}	n. i. (at pH 7.0)	0 (at pH 7.0)
Dehydroacetic acid	0		5.0
	4×10^{-2}		3.6
	9×10^{-2}		2.2
	4×10^{-1}	n. i. (at pH 7.0, 5.5)	0 (at pH 7.0)
Boric acid	0		6.0
	6×10^{-2}		3.6
	12×10^{-2}		2.8
	6×10^{-1}		1.8
	12×10^{-1}	n. i. (at pH 7.0, 5.5)	0 (at pH 7.0)
Chlortetracycline	0 ppm		5.0
	5 ppm		1.7
	10 ppm	n. i. (at pH 7.0)	0 (at pH 7.0)

* n. i. denotes no inhibition. ** indicates 100/methylene blue reduction time (min.).

3. ビタミン K_3 (2-methyl-1, 4-naphthoquinone), その他の薬品類の発芽・発芽後生育に対する影響:

ソルビン酸とオキシンは枯草菌胞子の発芽抑制の効果があつたが, 他の供試薬品類にはこの作用はなかつた。すなわちビタミン K_3, 5-ニトロ・フルフリル・アクリル・アミドおよびデヒドロ酢酸はいずれも発芽には影響がなく, また硼酸とクロルテトラサイクリンも同様に効果がなかつた。デヒドロ酢酸と硼酸は pH 5.5 で試験した場合もほとんど影響が認められなかつた。これらの結果は Table 1 に示したが, 発芽後の生育には阻害剤としてよく作用した。ビタミン K_3 については先に銭谷氏[5] が得た結果とは異なつて発芽抑制が見られなかつた。しかし発芽後生育には Fig. 7 のごとく 0.6~1.0mg % で明らかに阻害が見られる。

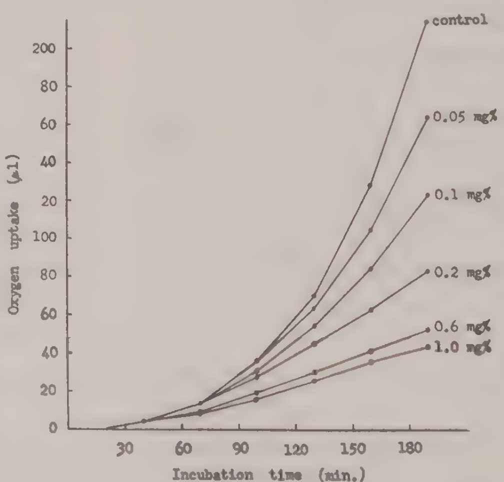


Fig. 7. Effect of 2-methyl-1, 4-naphthoquinone on the postgerminative development of *Bacillus subtilus* spores (at pH 7.3).
mg% indicates the concentration of 2-methyl-1, 4-naphthoquinone.

子に対し薬品が透過しないことも考えられる。胞子は脂質性の層で被われそのため透過が困難なこともあるから薬品の透過を促す目的で界面活性剤を併用して見た。毒性が少い非イオン系の Tween 80 を併用したが，このような試みはすでに多くの報告があり，岡林氏[13]は非イオン界面活性剤が抗黴剤に対する影響を試験し，4-ニトロ・キノリン-N-オキサイドに対し協同的に，ビタミン K_3 およびデヒドロ酢酸に対し抑制的に作用することを認めている。Table 1 に示した薬品およびソルビン酸の場合，発芽に対するそれらの作用は Tween 80 の存在によつてほとんど影響を受けなかつた。しかしオキシンは 0.2% 以下の Tween 80 が共存しても協同効果はないが，0.5% 添加すると Fig. 5 のようにかえつて発芽阻害作用が緩和される傾向を示した。

要　　約

枯草菌胞子を用いてその発芽および発芽後生育に対する数種防腐剤の影響について比較検討し，つぎの結果を得た。食品保存料の大部分は発芽に対してほとんど抑制作用がないが，発芽後生育に対しては阻害作用をおよぼす。ソルビン酸は酸性域では発芽の抑制作用があつてほぼ同濃度で発芽後生育をも阻害した。しかしオキシン (8-hydroxyquinoline) は発芽抑制にはその発芽後生育の阻害に要するよりも遙かに高濃度を必要とした。

この研究に当り，終始懇篤な指導を与えられた長崎大学水産学部銭谷助教授に深謝の意を示する。

文　　献

1) 木俣正夫： 本誌，**16**，568 (1951).
2) 内山　均・横関源延・本橋光太郎： 本誌，**24**，370 (1958).
3) 横関源延・大島　浩： 北海道水試報告，No. 7, 1 (1950).
4) 曾々木淑子： 本誌，**23**，793 (1958).
5) 銭谷武平： 長崎大学水産学部研究報告，No. 7, 61 (1958).
6) DARANYI, J. V.: *Zent. Bakt., Abt.* I, **117**, 543 (1930).
7) SHIMIDU, W. and UENO, S.: *Memoirs of Res. Food Sci., Kyoto Univ.*, **10**, 25, 30 (1956).
8) HACHISUKA, Y. et al.: *J. Bacteriol.*, **69**, 399 (1955).
9) EMARD, L. O. and VAUGHN, R. H.: *J. Bacteriol.*, **63**, 487 (1952).
10) YORK II, G. K. and VAUGHN, R. H.: *J. Bacteriol.*, **68**, 739 (1954).
11) BELL, T. A., ETCHELLS, J. L. and BORG, A. F.: *J. Bacteriol.*, **77**, 573 (1959).
12) POWELL, J. F.: *J. Gen. Microbiol.*, **4**, 330 (1950); *Ann. Rev. Microbiol.*, **9**, 387 (1955) による。
13) 岡林　直： 醱酵工学雑誌，**31**，292 (1953).

水産動物筋肉の酵素化学的研究—II.
好気的条件における解糖作用

柴　田　　猛・吉　村　克　二

(1959 年 12 月 24 日受理)

ENZYMATIC STUDIES ON THE MUSCLE OF AQUATIC ANIMALS—II.
AEROBIC GLYCOLYSIS OF FISH AND MOLLUSK MUSCLE

Takeshi SHIBATA and Katsuji YOSHIMURA*

It is the purpose of this series of the experiments to study on the rate limiting factors in glycolysis of the muscle of aquatic animals. In the present paper, the effects of substrates and cofactors on aerobic lactic acid formation or pyruvic acid formation in the crude muscle extracts are described.

With the extract from the skeletal muscle of carp, it was demonstrated that fructose diphosphate (FDP) is the most requisite substrate for lactic acid production and the increasing amounts of added FDP stimulate proportionally the lactate formation, but in the presence of pyruvate, lactic dehydrogenase appeared to be limiting factor. DPN was more effective than ATP and the results of lactate formation when DPN was omitted are the same as in the absence of both.

On the other hand, with the mantle muscle of squid, it has been observed that lactic dehydrogenase activity was very low and pyruvic acid was markedly accumulated as the end product of aerobic glycolysis. It may reflect different properties of enzymes of TCA cycle or an alternate route of pyruvic acid utilization. However, the effects of cofactors and substrates on the accumulation of pyruvate are the same as in the case of carp muscle.

水産動物筋肉の死後の解糖作用に関する成分変化の研究がかなり行われているが[1),2),3)]，直接に酵素活性の変化をみたものは小野[4)]の報告しか見当たらない。死後の筋肉代謝でグリコーゲンが減少し乳酸が増加すると一般に考えられている。しかしグリコーゲンは短時間に減少するが，筋肉収縮と異なり乳酸が必ずしもその量に対応して増加していない[5)]。またグリコーゲンが乳酸に変つたという確証もない。これは解糖系が途中で何かの原因によつて阻止されたものと考えられる。この停止の原因が解糖系に関与する種々の酵素群のうち，ある不安定なものが存在しており，作用基質の不足または過剰のためか，また助酵素的因子の欠乏や阻害物質の蓄積等のどれか，または全部が制限因子になつているに違いない。

酵母の Lebedew juice では果糖燐酸 (FDP) がアルコール醗酵の制限因子になり[6)]，CORI[7)]は筋肉収縮において fructokinase が乳酸生成の rate-limiting factor と指摘している。また人間の白血球の好気的解糖系では hexokinase が rate-controlling enzyme であると報告されている[8)]。若しこれらの条件が補われるなら，存在しているグリコーゲンに相当する乳酸が生成されることになるだろう。これらの関係を解明するために LEPAGE の解糖系の組成液[9)]を用いて乳酸生成と FDP の変化の関係をみた。

実　　　験

試料として市販の生きた養殖コイ，軟体動物としては生きたイカを用いた。

酵素液の調製——コイの場合は，断頭採肉し冷等張液 (0.75g の塩化ナトリウム，0.02g の塩化カルシウムと 0.02g の塩化カリを 100ml の蒸溜水に溶解した液) で一度洗滌し表面の水分を沪紙でふきとり 1g を

* 北海道大学水産学部 (Fac. Fish. Hokkaido Univ., Hakodate, Japan.).

秤量し同等張液の 9ml で Potter Elvehjem のホモゲナイザーで氷冷しながら2分間懸濁させ，3000 回で遠心分離し上澄液を酵素液とした。イカの場合は EDTA を 0.5g/l に含んだ 0.15M 塩化カリ溶液を抽出液としホモゲナイザーは日本精機製を用い同様に操作した。

反応組成液——反応組成液は Lepage の解糖系[9]を用いた。ATP は和光純薬の Zellstoff fabrik Waldhof 製のナトリウム塩を，DPN は阪大奥貫研究室より提出された製品と Cica よりの 95% cozymase を利用した。FDP は NBC 製，焦性ブドウ酸は N.P.C. 製のものをナトリウム塩[10]にして用いた。

測定法——乳酸は BARRKER and SUMMERSON 法[11] FDP は ROE 法[12]によつて測定し係数 3.6 を掛けて求めた。焦性ブドウ酸は LU の変法[13]を用いた。

操作——酵素液および Lepage の組成液を予め氷中に冷却しておき，氷中にて両者を混合し，直ちに一定量を採取し氷冷した同量の 10% トリクロール酢酸に注入して脱蛋白し上澄液について FDP，乳酸と焦性ブドウ酸を測定する。この時間をゼロ時間とする。一方残りの反応混合液を直ちに 30°C で incubation して 20 分毎に一定量をとり同様に操作する。各時間毎の値から0時間の値を差引いて減少また増加した量とする。

実 験 結 果

1) コイ筋肉の場合

Lepage の解糖系から cofactor としての ATP と DPN をぬいて乳酸の生成と FDP の変化をみた一例が Fig. 1 に示される。FDP は時間とともに減少するが直ちに平衡状態になる。ATP, DPN の除去は FDP の減少すなわちアルドラーゼ活性に大きな変化を与えない。平衡は用いた FDP の量の 70〜80% に達したときに成立する。しかし酵素活性が弱まると平衡状態も徐々にへり 70% 以下になる。乳酸の変化は FDP の変化よりやや遅く，徐々に増加する。FDP 1モルより2モルの乳酸が生成するとすれば，40〜60% の乳酸が生成されて平衡になる。この差は酵素製品によつて異なる。乳酸生成に対する cofactor の効果は ATP よりも DPN にその効果が大きく，ATP と DPN の両者を除去した場合と DPN だけを除去したときとほとんど差がない。これらの factor は初速度に影響を与える。余り効果がみられなかつた ATP でも始めの 20 分間は DPN とほとんど同様で時間毎増加していく。これは FDP 以下で ATP が生成されるからであろう。また両者をのぞいても未だ乳酸がつくられるのは内生的なのこれらの因子が存在しているためと思われる。

焦性ブドウ酸と FDP の効果を示したのが Fig. 2

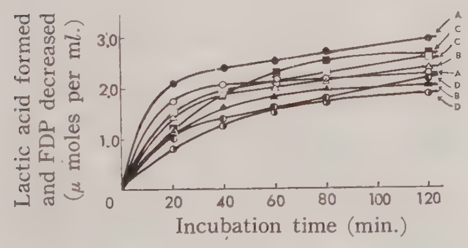


Fig. 1. Effect of ATP and coenzyme on lactic acid formation and the changes of FDP in the extract from carp muscle under aerobic condition.

The glycolytic system was the same as the system described by Lepage(1948)[9],except that in final volume of 3.0 ml, of the solution 8.6μ moles of FDP and 2.6 mg muscle protein extracted by sotonic solution were used. The mixtures were incubated at 30°. Aliquots of the reaction mixtures were pipetted into equal volume of 10 per cent of trichloroacetic acid at the times specified in the figure. The values are expressed as μ moles per ml of incubation mixture.

○, △, □, ◐: decreased FDP; ●, ▲, ■, ◑: increased lactic acid; Curve A, control system; Curve B, DPN omitted; Curve C, ATP omitted;C urve D, ATP and DPN omitted.

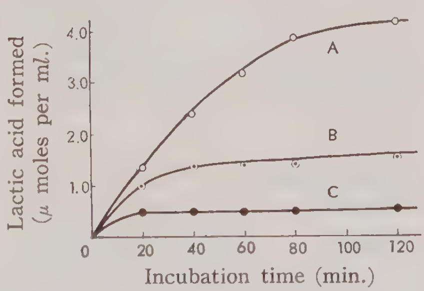


Fig. 2. Effect of FDP and pyruvic acid on lactic acid formation in the extract from carp muscle under aerobic condition.

Experimental conditions were the same as in Fig. 1, except that 1.8 mg. extract protein was used. Curve A, control system; Curve B, pyruvic acid and fluoride omitted; Curve C, FDP omitted.

である。焦性ブドウ酸と FDP は乳酸生成に大きな影響を与える。 FDP が存在しないと乳酸の生成がみられない。すなわち焦性ブドウ酸があつても，環元型の助酵素がつくられないために乳酸脱水素酵素が作用しない。また焦性ブドウ酸を除去すると乳酸はつくられるが速度がかなり遅い。この乳酸は FDP よりつくられたもので，Lepage の解糖系は乳酸脱水素酵素によつて左右されると考えられる。FDP と焦性ブドウ酸と乳酸との三者の関係をみたのが Fig. 3 である。トリス緩衝液と FDP と助酵素と Mg^{++} イオンを用いた系で行つたものである。FDP の変化はほとんど平衡に達しているが，乳酸と僅かであるが焦性ブドウ酸も徐々増加している。乳酸脱水素酵素による還元型助酵素の酸化速度は，FDP より 1・3 燐グリセリン酸をへて焦性ブドウ酸になるまでの速度より遅いように思われる。同条件で焦性ブドウ酸を加えた完全系では乳酸の生成速度が倍になる。酸化型と還元型助酵素との回転が滑かになるためと思われる。Fig. 4 は焦性ブドウ酸の存在で FDP の濃度を変えた実験で， 濃度が大きくなる程 FDP の利用される割合はやや減少するが，乳酸の生成量が増加する。 助酵素の回転は FDP の濃度が多ければ，それだけ早くなる。3-燐グリセロアルデハイド脱素水酵素は充分に存在していることになる。しかし利用された FDP より生ずる乳酸の割合は減少する。同組成液について焦性ブドウ酸の変化をみると[14)]，FDP を 3.5μM 以上にすると焦性ブドウ酸の減少の曲線が段々と近づいてくる。乳酸脱水素酵素の活性の飽和状態に近づいたものと思われる。これはむしろ助酵素の濃度の飽和のためよりも， FDP の利用度および Fig. 3 より考えて乳酸脱水素酵素の量の飽和のためではないかと推定される。これについてはなお研究中である。

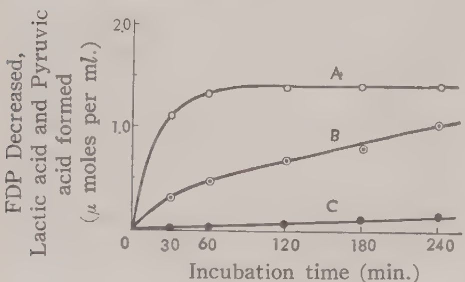


Fig. 3. Relations between FDP, lactic acid and pyruvic acid in the extract from carp muscle under aerobic condition.

The reaction mixtures contained, 33μ moles of Tris buffer pH 7.6, 4μ moles of $MgCl_2$, 0.25μ mole of DPN, 1.7μ moles of FDP and 0.9 mg. extract protein in a final volume of 1 m*l*. Other conditions were the same as in Fig. 1. Curve A, decreased FDP; Curve B, increased lactic acid; Curve C, increasedp yruvic acid.

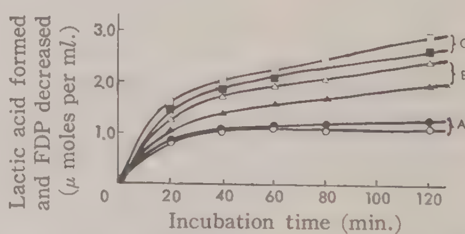


Fig. 4. Effect of FDP concentration on lactic acid formation and the changes of FDP in the extract from carp muscle under aerobic con-dition.

Experimental conditions were the same as in Fig. 1, except that FDP in varying concentrations and 1.5 mg. extract protein were used. ○, △, □: decreased FDP; ●, ▲, ■: increased lactic acid; Curve A, 5.2μ moles FDP added; Curve B, 10.5μ moles FDP added; Curve C, 15.7μ moles FDP added.

2) イカ筋肉の場合

イカ筋肉の場合も同様な方法を試みたが，コイ・フナやネズミと異なり乳酸の生成が非常に小さく，焦性ブドウ酸が蓄積する。その一例を Fig. 5 に示される。対照系，焦性ブドウ酸を除いた系および焦性ブドウ酸と弗化ナトリウムを除いた系で FDP， 焦性ブドウ酸および乳酸の変化をみたものである。いずれの系にも乳酸の生成がみられなかつた。しかし，焦性ブドウ酸と弗化ナトリウムを除いた系においては著しい焦性ブドウ酸の蓄積がみられた。前二者の系に蓄積がみられないのは弗化物の阻害のためと思われる。この蓄積物のディニトロフェニールヒドラジン誘導体をペーパークロマト[15)]にかけ焦性ブドウ酸なることを認めた。また乳酸脱水素酵素がないのではなく活性が非常に弱い。イカ筋肉のアセトン粉末実験で 38°C, 2.2 mgの蛋白で 2μM の FDP を使用して6時間で 0.20μM および 24 時間で 0.50μM の乳酸を生ずる。 利用された FDP の 10〜20% が乳酸に変化している。コイとは異なつた特徴としてアルドラーゼ活性が強いことであ

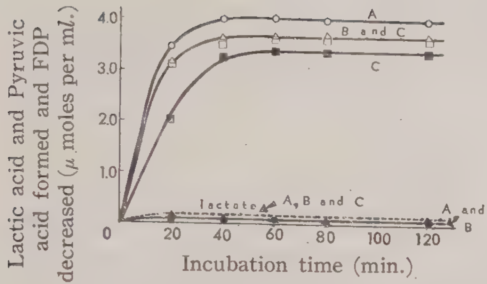


Fig. 5. Pyruvic acid formation, lactic acid formation and the changes of FDP in the extract from squid muscle under aerobic condition.

Experimental conditions were the same as in Fig. 1, except that 12μ moles of FDP and 2.8 mg. extract protein used. ○, △, □: decreased FDP; ●, ▲, ■: increased pyruvic acid; ·····: increased lactic acid. Curve A, control system; Curve B, pyruvic acid omitted; Curve C, pyruvic acid and fluoride omitted.

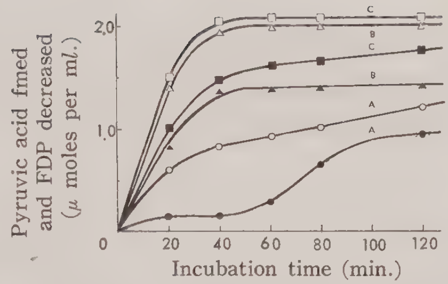


Fig. 6. Effect of ATP and DPN on pyruvic acid formation and the changes of FDP in the extract from squid muscle under aerobic condition.

The reaction mixtures contained 20μ moles of Tris buffer pH 7.6, 6.6μ moles of $MgCl_2$, 0.2μ mole of DPN, 3.5μ moles of ATP, 2μ moles of FDP and 1.0 mg. extract protein in a final volume of 1.0 ml. Other conditions were the same as in Fig. 1. ○, △, □: decreased FDP; ●, ▲, ■: increased pyruvic acid. Curve A, ATP and DPN omitted; Curve B, ATP omitted; Curve C, control system.

る。FDP の利用がほとんど 90〜100% となつている。焦性ブドウ酸の量は利用された FDP の 35% に相当する。以後イカ筋肉については，焦性ブドウ酸の変化をみることにする。各因子の影響はコイの乳酸に対するのと全く同様である。ATP および助酵素の効果が Fig. 6 に示される。FDP の変化とは関係なく，助酵素なしでも 120 分で FDP の 25% が焦性ブドウ酸に変化している。ATP も効果がないように思われる。助酵素の濃度の効果は Fig. 7 に示される。助酵素の濃度から考えられる以上の焦性ブドウ酸が蓄積してい

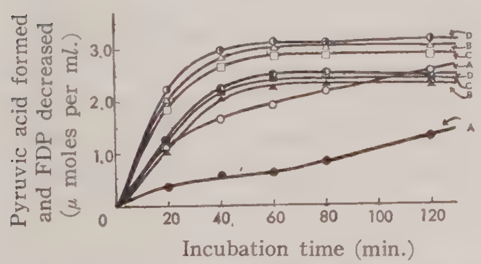


Fig. 7. Effect of DPN concentration on pyruvic acid formation and the changes of FDP in the extract from squid muscle under aerobic condition.

The reaction mixtures contained, 20μ moles of Tris buffer (pH 7.6), 6.6μ moles of $MgCl_2$, 3.3μ moles of FDP, DPN in varying concentrations and 0.6 mg extract protein in a final volume of 1.0 ml. Other conditions were the same as in Fig. 1. ○, △, □, ◑: decreased FDP; ●, ▲, ■, ◐: increased pyruvic acid; Curve A, no DPN; Curve B, 0.11μ mole of DPN added; Curve C, 0.23μ mole of DPN added; Curve D, 0.45μ mole of DPN added.

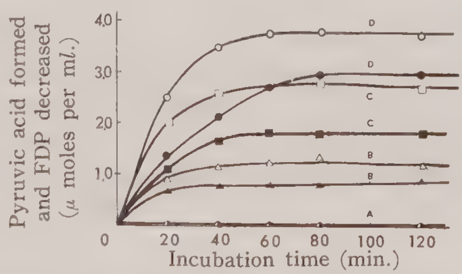


Fig. 8. Effect of FDP concentration on pyruvic acid formation and the changes of FDP in the extract from squid muscle under aerobic condition.

The reaction mixtures contained, 20μ moles of Tris buffer (pH 7.6), 6.6μ moles of $MgCl_2$, 0.2μ mole of DPN, FDP in varying concentrations and 1.4 mg extract protein in a final volume of 1 ml. Other conditions were the same as in Fig. 1. ◑, ○, △, □: decreased FDP; ◑, ●, ▲, ■: increased pyruvic acid; Curve A, no FDP added; Curve B, 1.3μ moles FDP dded; Curve C, 2.7μ moles of FDP added; Curve D, 4.0μ moles FDP added.

るが，乳酸脱水素酵素による酸化が少いので，他の過程で還元型助酵素の回転が行われていると推定される。焦性ブドウ酸に対する FDP の効果が Fig. 8 に示される。FDP がないと焦性ブドウ酸が蓄積しないが，FDP の濃度の増加によつて焦性ブドウ酸も一定の割合に変化し，コイ肉とはかわり，全く FDP の量に比例する。乳酸脱水素酵素の影響がないためと思われる。

考　　察

イカ筋肉ではコイ，フナおよび哺乳動物と違い乳酸の生成が少く焦性ブドウ酸が蓄積することは解糖作用が異なつているのか，または TCA サイクルの回転が非常に早いためと思われる。アセトン粉末の乳酸生成から乳酸脱水素酵素が不安定なことは考えられない。嫌気的条件での乳酸脱水素酵素の作用については，なお研究中である。

ある種の昆虫でも焦性ブドウ酸が蓄積することが報告されており[16),17)]，同時に酸に安定なグリセロ燐酸も蓄積する。利用された FDP の 35% が焦性ブドウ酸に変るが，残余の蓄積状態も研究中である。恐らくイカでも FDP より triose phosphate をへてグリセロ燐酸になる経路も相当な割合を示していると思われる。それは乳酸脱水素酵素の活性が小さいのに助酵素の回転が大きいことより，還元型助酵素を利用する α-glycerophosphate dehydrogenase の存在が考えられるからである。コイ肉でも存在するが，モノ沃度酢酸で阻害[18)]すると，コイでは FDP がほとんど利用されないが，イカでは徐々ではあるが利用されていることにより，この経路はコイ肉では少いと思われる。この焦性ブドウ酸の異常の蓄積は TCA サイクルにも影響せずにはおかないと想像されるが，軟体動物特有物質オクトピンの生成にもある程度関与しているのではないだろうか。

後報で述べる予定であるが，glucose の利用がこの系では認められない。それで ATP の利用がないためと FDP 以下の反応で ATP が形成されるから ATP の効果がないと思われる。しかしイカについてだけであるが，ADP の効果も認められない。イカには ADP を含め内生の核物質が多量に含まれている[19)]ことにより，イカとコイ肉の解糖系にも異なつた要素が作用すると思われる。

要　　約

コイとイカ筋肉抽出液を用い，好気的条件で乳酸および焦性ブドウ酸の生成に対する種々の因子の効果をみた。コイ肉の場合，乳酸の生成は FDP に依存し FDP の濃度を増すと乳酸形成量も多くなる。しかし焦性ブドウ酸の存在下では，乳酸脱水素酵素が control factor になるらしい。ATP および DPN の助酵素的因子の効果は DPN の方が大きい。イカ筋肉においては，焦性ブドウ酸が解糖系の最終産物として蓄積する。乳酸脱水素酵素の活性は非常に小さい。焦性ブドウ酸の蓄積に対する各因子の効果はコイ肉の場合と全く同様である。

終りに臨み，DPN を提供してくださつた阪大奥貫一男教授に深く感謝いたします。また一部の実験に牛山寛，増尾英明，水木徹生，沢田光の諸君の援助をうけたことに対して感謝します。

文　　献

1) 山田紀作・新間彌一郎・鈴木たね子： 本誌，**14**，23；41；44 (1948).
2) 天野慶之・尾藤方通・河端俊治； 本誌，**19**，487 (1953).
3) 藤巻正生・古城健三： 本誌，**19**，499 (1953).
4) 小野豊樹・永山文男： 本誌，**23**，260 (1957).
5) 吉村克二・久保周一郎・伊藤裕三： 北大水産彙報，**4**，157 (1953).
6) 野村真康： 化学の領域増刊，**13**，ワールブルグ検圧計，144 頁，東京，南江堂 (1954).
7) C. F. Cori： in O. H. Gaebler, *Enzymes, Units of Biological Structure and Function*. 573p. New York； Academic Press. Inc. (1956).

8) W. S. Weck: *J. Biol. Chem.* **232**, 251 (1958).
9) G. H. Lepage: in W. W. Umbreit et al, *Mannometric Techniques and Tissue Metabolism.* 143 p. Minneapolis; Burgess Publishing Co. (1951).
10) 細谷憲政: 江上編，標準生化学実験，566 頁，東京，文光堂 (1953).
11) S. B. Barker and W. H. Summerson: 化学の領域増刊，**33**，"生化学領域における光電比色法" 各論 **1**，105頁，109 頁，東京，南江堂 (1958).
12) J. H. Roe: in S. P. Colowick and N. O. Kaplan, *Methods in Enzymology.* Vol. **3**, 57 p. New York; Academic Press Inc. (1957).
13) G. D. Lu: in W. W. Umbreit et al, *Mannometric Techniques and Tissue Metabolism.* 162 p. Minneapolis; Burgess Publishing Co. (1951).
14) 柴田　猛: 未発表.
15) 香月裕彦・金行広雄: 化学の領域増刊，**33**，"生化学領域における光電比色法" 各論 **1**，95～104 頁，東京，南江堂 (1958).
16) W. Chefurka: *Biochem. Biophys. Acta* **28**, 660 (1958).
17) Václav Kubišta: *Biochem. Z.* **330**, 315 (1958).
18) 吉村克二・柴田　猛: 未発表.
19) 斎藤恒行・新井健一・田中ツネ: 北大水産彙報，**9**，121 (1958).

ROLE OF OXYTETRACYCLINE AND CHLORTETRACYCLINE ON KEEPING THE QUALITY OF FISH WITH SPECIAL REFERENCE TO INCREASE OF RESISTANT BACTERIAL POPULATION

Toshiharu KAWABATA,* Genji SAKAGUCHI,* Sumiko SAKAGUCHI,* Yumiko NAKAMURA,* Taeko AKANO* and Tomoaki OKITSU**

(Received Dec. 14, 1959)

Much attention has been paid in recent years to antibiotics as possible preservatives of such perishable foodstuffs as fish. Many antibiotics have been examined as to the possibility to prolong the storage life of fish by TARR et al.[1], MILLER et al.[2], TOMIYAMA et al.[3], FARBER et al.[4], or other workers, in which oxytetracycline (OTC) and chlortetracycline (CTC) have been reported to have apparent preservative effects upon fish.

Recently, CTC was officially permitted as an aid in fish preservation by both the governments Canada and the United States. In 1957, Japanese Government gave permission for the use of CTC-ice to maintain freshness of fish hauls by trawlers in the West Sea Area of the Japan Islands.

The usefulness of the aforementioned antibiotics, has again become evident, in our present study, however, it was also revealed that the treatment of fish with antibiotic changes the mode of decomposition in comparison with untreated fish, particularly in appearance, odor and bacterial flora. The character or the role of resistant bacterial flora on the mode of decomposition of treated fish have been discussed.

Materials and Methods

Three separate experiments on fish preservation with antibiotics were run in the present study. Each experiment involved 20 flat fish, which were treated by dipping in 10 ppm. or 30 ppm. of antibiotic solution for 10 or 120 minutes. The fish were stored at 4° or 20°C. Chemical and microbiological determinations were performed on 0, 1, 2, 3, 5 and 7-days with those kept at 20°C. and on 0, 1, 3, 6 or 7, 10, 14, and 20 or 21-days with those kept at 4°C.

Fish: The first experiment was conducted with round flat-fish (*Paralichthys olivaceus* (T. et S.)) ranging from 25 to 40 cm. of body length and treated with OTC, the second with gutted stone flounder (*Kareius bicoloratus* (B)) ranging from 25 to 35 cm. of

* Dept. Food Control, National Inst. Health, Tokyo, Japan. (河端俊治，阪口玄二，阪口澄子，中村友光子，赤野多恵子，国立予防衛生研究所食品衛生部，東京都品川区上大崎長者丸).
** Saitama Prefect. Hyg. Lab., Ōmiya, Saitama, (興津知明，埼玉県衛生研究所，大宮市吉敷町).

body length, and treated with CTC, and the third with gutted stone flounder and treated with OTC. These fish had been kept alive until use.

Antibiotic solution: Biostat GP (Chas. Pfizer & Co. Inc.) containing 20 per cent of OTC, and Acronize, prepared with pharmaceutical grade CTC and other ingredients by the authors according to the formula of American Cyanamid Co., were used in the experiments. Both antibiotic preparations were dissolved in distilled water to give final concentrations of 10 and 30 ppm. or gamma per ml.

Treatment of fish: All of the fish were immersed in distilled water at room temperature, with or without added antibiotics for 10 or 120 minutes, removed from the solution, placed in polyethylene bags, and then stored at 4°C.(±2°) or 20°C.(±0.5°).

Preparation of samples for chemical or biological analyses: Each fish was removed from the package, 5.0 g. of skinned muscle were taken with knives and forceps aseptically. Samples from two fish of the same group were put in a sterile mortar and ground well. To the 10 g. of the minced flesh, 20 ml. of a 0.1 M citrate buffer (pH 5.2) was added and the mixture was minced again with the aid of sterile quartz sand. After taking samples for residual antibiotic activity, 20 ml. of distilled water were added, thus affording a fivefold dilution. To 10 ml. of the homogenate, 10 ml. of 10 per cent trichloroacetic acid solution (TCA) was added and this was filtered through a filter paper. The TCA extract was used for chemical analyses.

The remaining fish homogenate in the mortar was used for the evaluation of viable bacterial number and the level of antibiotic activity.

Chemical determinatiou of the freshness of fish: The TCA extract described above was used for the determination of trimethylamin-nitrogen (TMA-N), ammonium nitrogen (NH_3-N), and non-protein nitrogen. TMA-N was measured by Deyer's picrate method[5], and NH_3-N was determined by Conway's microdiftusion technique coupled by nesslerization[6]. Estimation of non-protein-N was performed with Folinphenol reagent according to Lowry et al[7]. and the results were expressed as milligram equivalent tyrosine per 100 g. of original fish muscle.

About one g. of minced fish flesh was placed in a small beaker and a small amount of distilled water was added and the pH value of muscle was measured by a Beckman pH meter.

Total viable and resistant bacterial populations: The diluted fish homogenate was measured decimally in tubes of sterile saline solutions. Total viable bacterial number was measured by ordinary plate count technique with Kyokuto's plate count agar medium and the resistant bacterial population with the same agar containing 5 ppm. of antibiotic. After incubating for 48 hours at 30°C., the number of colonies developed was counted and the total or resistant count per g. of originol fish muscle was calculated.

Isolation and determination of characteristics of resistant bacteria: In order to isolate the resistant bacteria, colonies from the agar media used for counting the

resistant bacterial population were transferred into saline, from which a loopful of inoculum was streaked on the surface of the agar medium containing 5 ppm. of the antibiotics and incubated for 24 hours at 30°C. Several of the predominant colonies were picked up. The characteristics of resistant bacteria relative to the decomposition of fish, proteolytic nature, ammonia formation, trimethylaminoxide reduction, and hydrogen sulfide formation, were examined.

Assay of the antibiotic activity in fish: Using the previously described fish homogenate, the level of antibacterial activity in the fish muscle treated with either OTC or CTC was determined by TOMIYAMA's pad plate method[5] using *Bacillus cereus var mycoides* (ATCC 9634), PCI # 213 strain. The level of activity on the skin was assayed by the following procedure; a pair of paper pad disc (CARL SCHLEICHER & SCHUELL Co., No. 740-E) were placed directly on the skin of fish and then the activity of pads were determined by paper pad plate technique.

Results

Organoleptic findings: Results of organoleptic tests are shown in Tables 1 and 2. No marked difference in efficacy on keeping the fish quality were observed in the experiments at 20°C. On the 5th day in Experiments 2 and 3, the untreated fish developed a strong putrid odor and appearance while the treated fish gave a particular odor differenct from ordinary putrefaction and had better appearance.

Storing the treated fish at 4°C. showed a marked effectiveness in keeping the quality of fish, so far as odor and appearance were concerned. Treatment of round flat fish resulted in less effectiveness as compared with gutted fish. Gills or viscerae of such species as flat fish, a bottom fish living in a shallow sea, may be highly con-

Table 1. Organoleptic Changes of Fish Treated with Antibiotics during Storage at 20°C.

Experiment 1. Round flat fish treated with OTC.

Treatment (dipping)	Period of storage in day			
	1	2	3	5
Control	fresh	slimy, odor normal	putrid odor +, flesh soft	flesh very soft, odor +++
10 ppm 10 min.	same above	slimy, green around belly	slightly stale	putrid odor +++
10 ppm 120 min.	same above	odor normal	slimy, odor normal	putrid odor +++
30 ppm 10 min.	same above	normal flesh firm	slimy, odor +*	putrid odor ++
30 ppm 120 min.	same above	same above	slimy, odor almost normal	putrid odor ++

Experiment 2. Gutted stone flounder treated with CTC.

Treatment (dipping)	Period of storage in day				
	1	2	3	5	7
Control	still in rigor mortis	odor normal, flesh soft	stale odor, fade in color	putrid odor +++	extremely putrefied
10 ppm 10 min.	same above	fresh odor, flesh soft	normal slimy	putrid odor ++	putrid odor ++
10 ppm 120 min.	same above	same above	same above	putrid odor +*	putrid odor ++
30 ppm 10 min.	same above	same above	same above	odor +*	putrid odor +
30 ppm 120 min.	same above	same above	same above	odor +*	putrid odor +

Experiment 3. Gutted stone flounder treated with OTC.

Treatment (dipping)	Period of storage in day				
	1	2	3	5	7
Control	still in rigor mortis	flesh softer, fishy odor	stale odor	putrid odor +++	extremely putrefied
10 ppm 10 min.	same above	flesh softer, odor normal	odor ±*	putrid odor ++	same above
10 ppm 120 min.	same above	same above	odor normal	odor +*	same above
30 ppm 10 min.	same above	same above	same above	same above	same above
30 ppm 120 min.	same above	same above	same above	same above	same above

Note:
*: A particular odor different from putrid one.

Table 2. Organoleptic Changes of Fish Treated with Antibiotics during Storage at 4°C.

Experiment 1. Round flat fish treated with OTC.

Treatment (dipping)	Period of storage in day					
	1	3	7	10	14	21
Control	still in rigor mortis	slimy, flesh firm	flesh soft normal odor	slightly stale	putrid odor +++	extremely putrefied
10 ppm 10 min.	same above	fresh	fresh	almost normal**	putrid odor +++	putrid odor +++
10 ppm 120 min.	same above	same above	flesh firm	slightly stale	putrid odor +	putrid odor ++
30 ppm 10 min.	same above	same above	same above	same above	odor ++*	putrid odor ++
30 ppm	same above	same above	same above	same above	odor ++*	putrid odor ++

Experiment 2. Gutted stone flounder treated with CTC.

Treatment (dipping)	Period of storage in day					
	1	3	6	10	14	20
Control	still in rigor mortis	fresh, slimy	almost normal	putrid odor +	putrid odor ++*	extremely putrefied
10 ppm 10 min.	same above	still in rigor	fresh	odor +*	odor ++*	odor +++*
10 ppm 120 min.	same above	same above	same above	odor ±*	odor +*	odor ++*
30 ppm 10 min.	same above	same above	same above	almost normal	odor +*	odor ++*
30 ppm 120 min.	same above	same above	same above	slimy normal	odor ±*	odor +*

Experiment 3. Gutted stone flounder treated with OTC.

Treatment (dipping)	Period of storage in day					
	1	3	6	10	14	21
Control	still in rigor mortis	still in rigor	slightly fishy odor	putrid odor ++	putrid odor ++*	extremely putrefied
10 ppm 10 min.	same above	same above	fresh flesh soft	odor +*	odor ++*	putrid odor ++
10 ppm 120 min.	same above	same above	same above	normal	odor ++*	putrid odor ++
30 ppm 10 min.	same above	same above	same above	same above	odor ++*	same above
30 ppm 120 min.	same above	same above	same above	same above	odor +*	putrid odor +

Note:

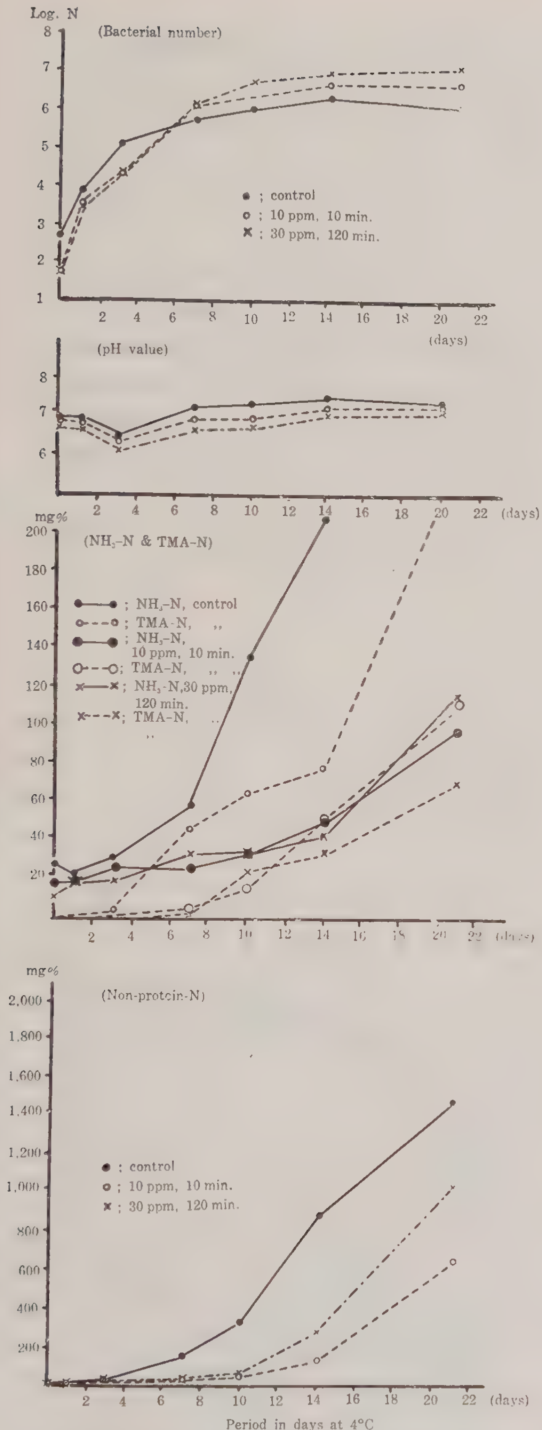
*: A particular odor different from putrid one.

**: Flesh became soft, surface slightly fading, but still edible.

taminated with putrefactive organisms as compared with that of a migrating or surface fish.

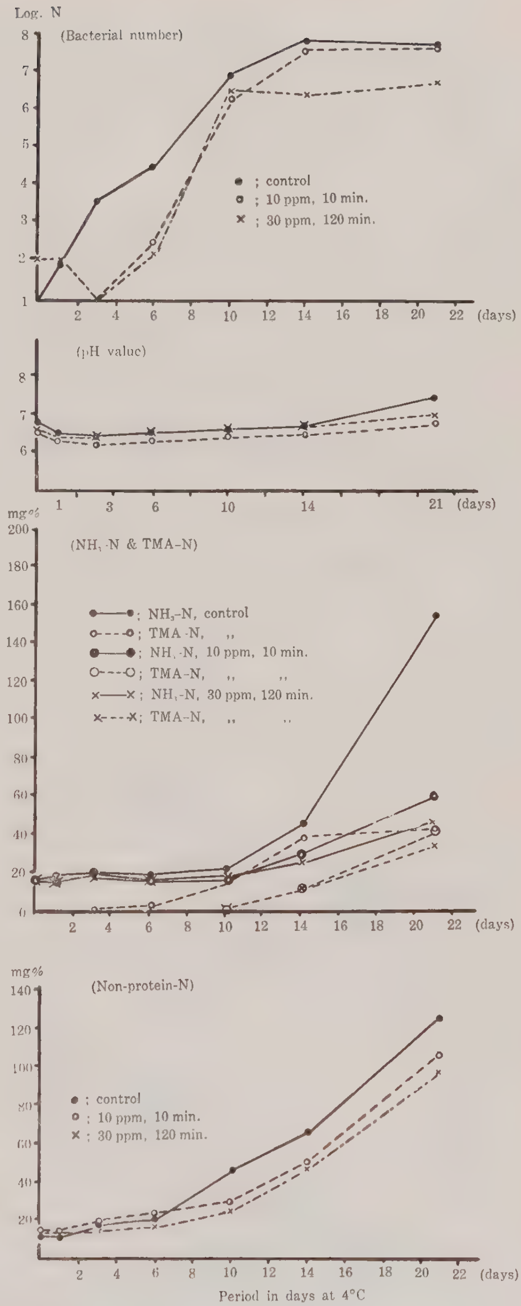
In Experiments 2 (with CTC) and 3 (with OTC), a marked decrease in the rate of decomposition was noted, however, after 10 days of storage, treated fish developed a particular odor, slightly sour and different from that of the control. The higher the concentration of antibiotic solution or the longer the dipping period, the lower was the rate of developing such a particular odor.

Freshness of fish evaluated by chemical or bacteriological methods: The effects of treatment by dipping in 10 ppm. of antibiotic solution for 10 minutes or in 30 ppm. for 120 minutes upon the changes in pH value, NH_3-N, TMA-N and total viable bacterial population during the storage at 4°C. for 22 days are shown in Figures 1 to



Values of non-protein-N were shown in mg% equivalent tyrosin determined by LOWRY'S method.

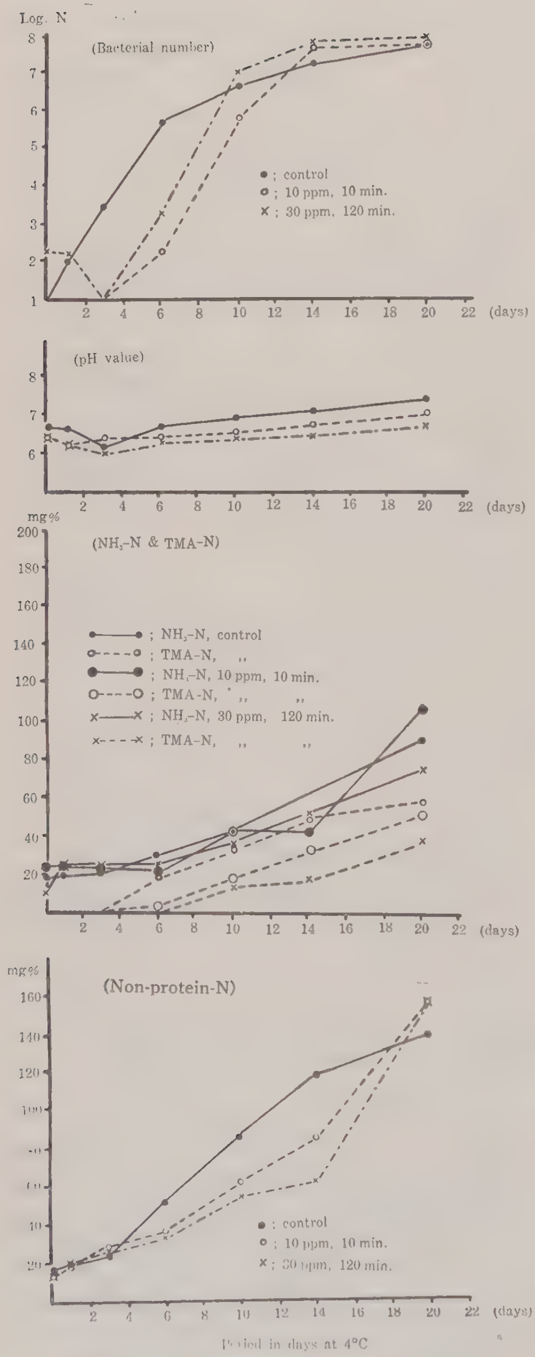
Fig. 1. Changes in Bacterial Number, pH Value, NH_3-N, TMA-N, and Non-protein-N of Round Flat Fish treated with OTC.



Values of non-protein-N were shown in mg% equivalent tyrosin determined by LOWRY'S method.

Fig. 2. Changes in Bacterial Number, pH Value, NH_3-N, TMA-N, and Non-protein-N Contents of Gutted Stone Flounder treated with CTC.

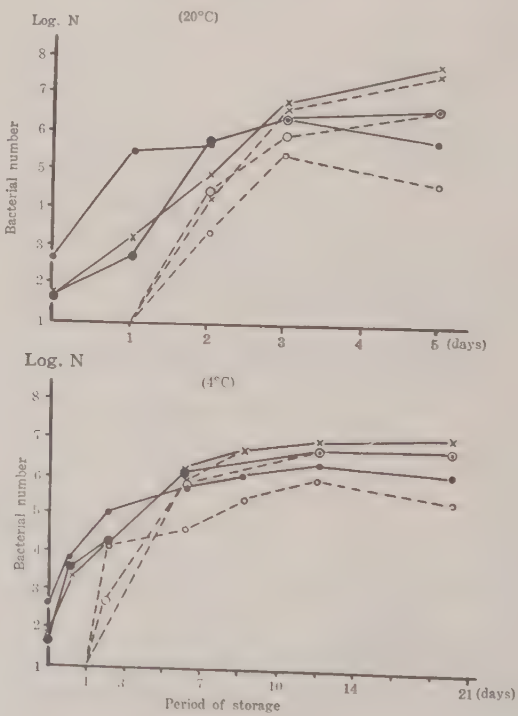
3. Keeping the treated fish at 4°C. prolonged the storage life for several days as measured chemically. During the 8th to 10th days in the Experiment 1, the bacterial number in the muscle of the treated fish exceeded that of control, whereas, ammonium-N or TMA-N contents were far less than those for the untreated fish. Similar findings were recorded on the 10-th day in both Experiments 2 and 3, when the fish showed no indication of putrefaction judged by either sensory or chemical means.



Values of non-protein-N weae shown in mg% equivalent tyrosin determined by LOWRY'S method.

Fig. 3. Changes in Bacterial Number, pH Value, NH_3-N, TMA-N and Non-protein-N Contents of Gutted Stone Flounder treated with OTC.

Comparison of total viable population



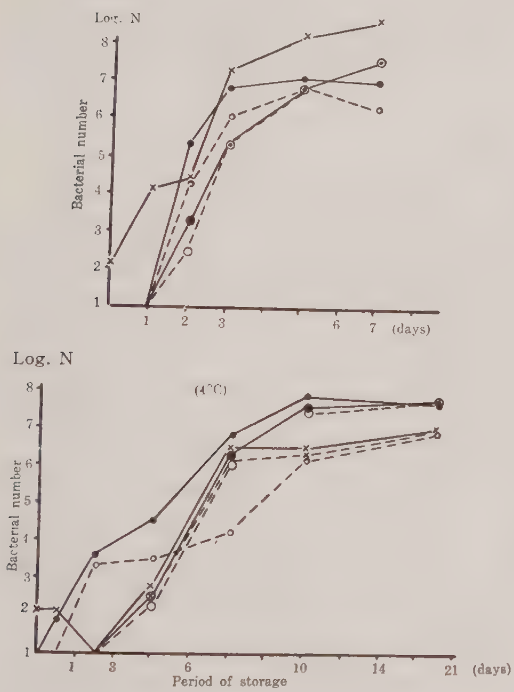
●——● ; control (total population)
○- - -○ ; ,, (resistant ,,)
●——● ; 10 ppm, 10 min. (total ,,)
○- - -○ ; ,, ,, (resistant ,,)
×——× ; 30 ppm, 120 min. (total ,,)
×- - -× ; ,, ,, (resistant ,,)

Fig. 4. Total and Resistant Bacterial Population.
(Experiment 2; stone flounder (*Kareius bicoloratus* (B.)), treated by dipping in 10 ppm or 30 ppm of CTC solution for 10 or 120 minutes.)

and resistant population: Figures 4 to 6 compare the rate of increase in bacterial population in fish muscle grown in plain agar medium and that containing 5 ppm. of CTC or OTC. Treatment of fish with antibiotics inhibited the growth of bacteria for a few days when the fish were stored at 4°C. Then, the bacterial number tended to increase rapidly.

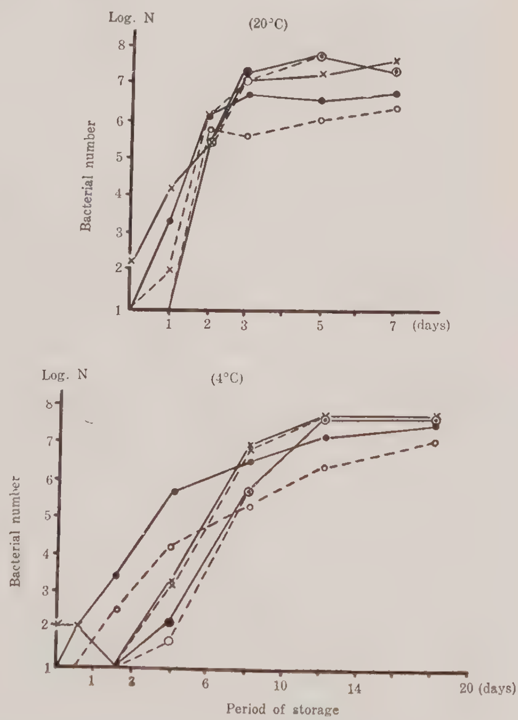
There existed a marked difference in resistant population between the treated and untreated fish. As shown in Fig. 4, on the 2nd day, resistant organisms in treated fish muscle started to increase rapidly, and on the 3rd day, the number of resistant organisms almost coincided with the total viable population. On the other hand, resistant organisms in control fish muscle were found to be less than 1 per cent of the total population. The data in Fig. 5 and 6 tend to bear out the observation described above.

It is noteworthy that almost all of the bacteria grown in treated fish muscle were



●——●; control (total population)
○---○; ,, (resistant ,,)
⬤——⬤; 10 ppm, 10 min. (total ,,)
◯---◯; ,, ,, (resistant ,,)
×——×; 30 ppm, 120 min. (total ,,)
×---×; ,, ,, (resistant ,,)

Fig. 5. Total and Resistant Bacterial Population.
(Experiment 1; flat fish (*Paralichthys olivacevs* (T. et S.)), treated by dipping in 10 ppm or 30 ppm of OTC solution for 10 or 120 minutes.)



●——●; control (total population)
○---○; ,, (resistant ,,)
⬤——⬤; 10 ppm, 10 min. (total ,,)
◯---◯; ,, ,, (resistant ,,)
×——×; 30 ppm, 120 min. (total ,,)
×---×; ,, ,, (resistant ,,)

Fig. 6. Total and Resistant Bacterial Population.
(Experiment 3: stone flounder (*Kareius bicoloratus* (B.)), treated by dipping in 10 ppm or 30 ppm of OTC solution for 10 or 120 minutes.)

resistant against either antibiotic and, more over, the growth curves in the treated fish were higher than those of the control (Fig. 4 and 6).

Resistant organisms in control fish stored at 4°C. were found to be less than 1 per cent of the total population.

It was also noted that the treated fish did not give any sign of deterioration when the bacterial number reached to the maximum level.

Table 3. Characters of the Resistant Strains Associated with Putrefying Action.

Strains isolated from treated fish.

Exp. No.	Temp. (°C)	No. of strains	Gelatin liquefac.	Indol form.	TMAO-reduct.	Urease	H_2S-form.	NH_3-form.
1	20°	17	3	5	2	10	6	2 (5)
	4°	23	4	1	1	10	2	2 (9)
2	20°	34	8	6	15	4	0	6 (27)
	4°	33	13	1	3	9	0	6 (25)
3	20°	24	11	2	7	3	3	3 (12)
	4°	30	7	0	1	1	1	7 (19)
Total		161	46 (28.6%)	15 (9.3%)	29 (18.0%)	42 (29.1%)	12 (7.5%)	27 (97) (16.8%)

Strains isolated from control fish.

Exp. No.	Temp. (°C)	No. of strains	Gelatin liquefac.	Indol form.	TMAO-reduct.	Urease	H_2S-form.	NH_3-form.
1	20°	2	0	0	0	0	0	0
	4°	6	0	0	0	2	0	(1)
2	20°	8	2	4	5	0	1	3 (7)
	4°	8	1	1	1	1	0	(2)
3	20°	6	3	0	1	0	1	1 (5)
	4°	8	4	0	3	0	0	1 (5)
Total		38	10 (26.3%)	5 (13.2%)	10 (26.3%)	3 (7.9%)	2 (5.3%)	5 (20) (13.2%)

Note:

Exp. 1; round flat fish (*Paralichthys olivaceus* (T. et S.)), treated by dipping in 10 ppm. or 30 ppm. of OTC.

Exp. 2; gutted stone flounder (*Kareius bicoloratus* (B.)), treated by dipping in 10 ppm. or 30 ppm. of CTC.

Exp. 3; gutted stone flounder, treated by dipping in 10 ppm. or 30 ppm. of OTC.

Figurs in parentheses of the column of NH_3 formers indicate the numbers of strain capable to form a small amount of ammonia in fish infusion medium.

Characteristics of the resistant organisms associated with putrefying action: A total of 400 resistant strains were isolated from the media containing 5 ppm. of OTC or CTC at varying stages of incubation in Experiments 1 to 3. Among these organisms 161 strains from treated fish and 38 from the control, which seemed to be predominant organisms, were examined to determine their characteristics, particularly ability to decompose fish. Results are summarized in Table 3.

Although determination of bacterial species was not completed yet, the majority of these resistant strains isolated are likely to belong to *Achromobacter-Pseudomonas*, *Flavobacterium*, or other psychrophilic organisms, while very few in number belong to *Micrococci* or *Proteus*.

As shown in Table 3, a greater part of resistant organisms were lacking the putrefying action. It is also noted that there existed no significant difference in the proportion of putrefactive strains between the treated and control fish. This fact may indicate the nature of naturally occurring resistant organisms, although the population was less than one per cent of the total viable organisms.

Discussion

The storage life of fish was apparently prolonged by treatment with such antibiotics as OTC and CTC. However, it was found that the effectiveness varied with such factors as the concentration of antibiotic solution, dipping period, and storage temperature, of which the storage temperature was likely to be the most important one. At a storage temperature of 4°C., the rate of deterioration was markedly lowered; while, at 20°C., the difference in storage life between the treated and untreated fish was so slight that the treatment seems to be of no practical value.

In general, the term "putrefaction" may be defined as a phenomenon of decomposing components of food due to the multiplication of microorganisms in it thus causing a change in appearance and the production of unpleasant or repugnant odor, resulting in the devaluation of the food.

The multiplication of microorganisms in the treated fish muscle was markedly inhibited for a few days at 4°C. Then, the bacterial number tended to increase very rapidly. It was noted that the total viable populations in the treated fish muscle reached or even exceeded those in untreated fish. At this stage, the control fish were in a typically putrid state; wheaeas, the treated fish were still in normal condition as judged by organoleptic tests or by chemical analyses.

As shown in Figures 4 to 6, the bacterial cultures from the treated fish muscle were able to grow in a medium containing 5 ppm. of the antibiotics. The majority of these resistant organisms, which seemed to be predominant at each stage of storage in Experiments 1 to 3, were likely to belong to the genera *Achromobacter-Pseudomonas*, *Flavobacterium* or other psychrophilic organisms, while very few belong to *Proteus* or *Micrococci*.

As shown in Table 3, a great number of these organisms were lacking such properties associated with putrefaction as liquefaction of gelatin, ammonium formation in the fish flesh infusion, trimethylaminoxide reduction, or other related characteristics.

In fact, very small amounts of NH_3-N, TMA-N, or non-protein-N were detected in the antibiotic-treated fish muscle, where rapid proliferation of the resistant organisms must have been taking place.

Although the number was no more than one per cent of the total population, the presence of naturally-occurring, resistant organisms was demonstrated also in the control fish muscle. In addition, there existed no significant difference in the proportion of putrefactive strains among the resistant organisms between the treated and control fish. These results may suggest that the proliferation of resistant organisms in the fish muscle treated with antibiotic was not due to the acquisition of resistance but caused by accelerated growth due to the inhibition of sensitive bacteria.

As shown in Figures 1 to 3, the decomposition processes of the fish muscle treated with antibiotics may be divided into the following 3 steps: In the first step, bacterial growth was apparently inhibited by the treatment; in the second, rapid multiplication of resistant organisms occurred without giving any sign of deterioration; and in the third, a particular odor distinct from putrefaction developed and the amount of NH_3-N, TMA-N, and non-protein-N increased without further increase in bacterial population. When the growth curves of bacterial population of both total viable and resistant bacteria in the second step of decomposition are compared with the formation of decomposition products during the storage at 4°C., it may be easily found that most of the sensitive organisms are putrefactive.

Although the multiplication of the resistant organisms is not associated with putrefaction, it may be true that the mode of decomposition or degradation is changed by these organisms. These organisms must consume some substances in the fish muscle as nutrient materials or energy sources of their growth. Free amino acids or other non-protein materials may be easily consumed by the bacteria, and this may be the cause of the particular odor different from the odor of putrefaction. In other words, such freshness tests that are used routinely and also in the present experiments should not be reasonably applied to the fish treated with antibiotics. In any event, the significance of the presence of resistant organisms in the treated fish remains to be studied in the future, especially from the public health standpoint.

These findings mentioned above may strongly suggest the urgent necessity in developing a stuitable method for evaluation of the freshness of the fish treated with antibiotics.

Summary

1. Three separate experiments of fish preservation with OTC and CTC were performed. Each experiment involved 20 found flat-fish (*Paralichthys olivaceus*) or gutted

stone-flounder (*Kareius bicoloratus*), which were treated by dipping in 10 or 30 ppm. of antibiotic solution for 10 or 120 minutes. These fish were stored at 4°C. or 20°C.

2. The storage life of the treated fish was prolonged, however the effectiveness varied with the concentration of antibiotic solution, the dipping period, and the storage temperature, of which the temperature was the most important factor. Storing the treated fish at 4°C. showed a marked effectiveness in keeping the quality of fish; while at 20°C. only a slight difference in storage life between the treated and untreated fish was observed.

3. The decomposition processes of the treated fish stored at 4°C. were divided into 3 steps: In the first step, multiplication of microorganisms is inhibited; in the second, bacterial population tends to increase rapidly without giving any sign of deterioration; and in the third, decomposition products and a particular odor distinct from putrefaction are formed without further increase in the bacterial population.

4. The majority of the bacteria grown in the treated fish muscle were psychrophilic, and non-putrefactive, and were resistant against 5 ppm. of the antibiotics.

5. The possible mechanisms of the predomination of the resistant organisms and of the formation of the particular odor in the antibiotic-treated fish were discussed.

Acknowledgement

The authors are grateful to CHAS. PFIZER & Co. and TAITO PFIZER & Co. for a research grant for the present study and for providing the antibiotics. The authors also wish to thank LEDERLE (Japan) for providing experimental materials used in this study.

References

1) TARR, H. L. A., and DEAS, C. P.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **7**, 221 (1948). TARR, H. L. A., SOUTHCOTT, B. A., and BISSETT, H. M.: *Proc. Repts. Pacific Coast Stations*, No. 83, 35 (1950). TARR, H. L. A., SOUTHCOTT, B. A., and BISSETT, H. M: *Food Tech.*, **6**, 363 (1952). TARR, H. L. A. and BISSET, H. M.: *Proc. Repts. Pacific Coast Stations*, No. 93, 23 (1952).
2) KOHLER, A. R., MILLER, W. H., and BROQUIST, H. P.: *Food Tech.*, **9**, 151 (1955).
3) TOMIYAMA, T., NOMURA, M. and KUROKI, S.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **21**, 262 (1955): **21**, 958 (1955). TOMIYAMA, T., KUROKI, S., MAEDA, D., HAMADA, S., HONDA, T., ODA, I., and MATSUO, T.: *Ibid*, **22**, 128 (1956). TOMIYAMA, T., YONE, Y., and MIKAJIRI, K.: *Ibid*, **22**, 778 (1957), TOMIYAMA, T., YONE, Y., and TSUDA, A.: *Ibid*, **23**, 568 (1958); **23**, 572 (1958).
4) FARBER, L.: *Food Tech.*, **6**, 319 (1952); 8, 503 (1954) YAKOUBOVSKY-LERKE, P. and FARBER, L.: *FAO Interim Committee on Fish Handling and Processing*. Symposium Paper No. 2, June, 1956 at Rotterdam-Netherlands.
5) DYER, W. J.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **6**, 351 (1945); **7**, 576 (1950).
6) KAWABATA, T.: Sendo-Hoji Renraku Kenkyu-han Jyoho No. 8 (1956) (text in Japanese).
7) LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. and RANDALL, R. J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
8) TOMIYAMA, T., TSUDA, A. and YONE, Y.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 660 (1957).

底棲魚の鮮度について

佐藤良裕

(1959 年 12 月 14 日受理)

EXAMINATION ON THE FRESHNESS OF BOTTOM FISH

Yoshihiro SATO*

The AMANO's method for the evaluation of the fish freshness applied by W. WALKIEWICZ's was found to be unapplicable to bottom fish (Table 1) as well as squid. It is considered that this was caused by the high pH value of those muscles which may be ascribed to the small quantity of lactic acid and high trimethylamine oxide content, having the buffering capacity on acid side below pH 6.25, in comparison with the pelagic fish. In order to justify this consideration, the determination of lactic acid and trimethylamine oxide, was carried out. The results are shown in tables 2, 3 and 4. The pH value of the mixed solution of trimethylamine oxide and lactic acid was measured as shown in Table 3 and the effect of addition of trimethylamine oxide and lactic acid on the pH value of histidine solution (958 mg%) was observed as indicated in Table 4. The pH value of bottom fish and squid generally is given as above 6.2, which is due to the small quantity of lactic acid and large amount of trimethylamine oxide. Owing to this high value the AMANO's method is not applicable for bottom fish and squid.

昭和 28 年に宮城県内の漁港で水揚直後の魚介類の鮮度を調査した際に W. WALKIEWICZ の昇汞反応を魚介類の鮮度判定に応用した天野法[1),2),3),4)] を適用していくうちに，カレイ，タイ等のごとき底棲魚は新鮮時においても常に陽性を示し (**Table 1**) 適用が不可能であることをみた[5)]。その後市販魚介類の鮮度を調査し，これらの魚種は揮発性アミンの発生が早く，かつその量が揮発性塩基に比して多いことを知つた[6)]が，これは堀江・関根等の報告[7)] に徴しトリメチルアミンオキサイド (以下 TMAO と略記) が多いためであろうと推定された。昇汞反応が新鮮な底棲魚でみられることと TMAO の含量の多いこととの間に関連があるのではないかと考えていたところ，最近須山は TMAO が **pH** 6.25 より酸性側において強い緩衝能を有することを明らかにした[8)] ので昇汞反応が肉抽出液の **pH** 6.2～6.3 以上になると陽転するという本法の原理[2)]から当然関連性があると思われ，また昇汞反応がイカに適用できないということ[4)] もイカの TMAO 含量が高い[9),10),11)]ことから首肯できそうに思われた。そこで底棲魚およびイカの TMAO を定量し昇汞反応との関連を考究し，かつ底棲魚鮮度低下の特徴である。揮発性アミンの発生が早く揮発性塩基に比して多いことの原因を確認するために本実験を行つた。昇汞反応は **pH** の変化に基いているので底棲魚，イカにおける **pH** との関係を検討し，**pH** に与える影響の大きい乳酸量も定量し昇汞反応との関係を考究した。

実験材料および方法

揮発性塩基窒素 (V·B–N), 揮発性アミン窒素 (V·A–N) の定量は CONWAY 法[12)] による。トリメチルアミンオキサイドの定量は W. J. DYER の法に準じて試料の処理を行い，生じたトリメチルアミン–N を CONWAY 法で測定する堀江・関根の法[7)] による。乳酸の定量は H. J. STARCH の法[13)] (微量ガス拡散法でアセトアルデヒドのチオセミカルバゾーンを得てその吸光度を 261.5 mμ** で光電光度比色計で測定する。

* 宮城県衛生研究所 (Miyagi Inst. Public Health, Sendai, Miyagi Pref.).

** 4, 5, 6 月の定量値は目盛の読違えで 260.75 mμ で得られたものだが感度は僅か鈍つたのみで大過ないと認められた。

測定誤差は原報によると ±2.5〜3.0%) による。pH の測定は硝子電極 pH メーターによつた。

以上の測定に用いた試料は底棲魚では背側胸鰭上部を主として 10 数 *g* を採り，イカでは外套膜下端を採り乳鉢で磨砕し各測定にそれぞれ 2, 5, 0.5, 2.5 *g* を供した。供試試料はつぎの通りである。4 月のマガレイ・・・・昭 34. 4. 11. 当所近くの店より一括購入（荒浜沖漁獲），9 月のマガレイ・・・・**No.** 11 は昭 34. 9. 16. 同店より購入（閖上沖漁獲），**No.** 12〜14 は同 9. 21. 同店より購入（漁獲地不明），5 月のマダイ・・・・同 5. 22.（荒浜沖より水揚）翌日同店より購入，9 月のマダイ・・・・同 9. 22.（閖上沖漁獲）翌日入手，6 月のイカ・・・・同 6. 17.（大船渡水揚）翌日上記店より購入，9 月のイカ・・・・**No.** 35 は同 9. 9. 同店より購入（青森産），**No.** 36, 37 は同 9. 13. 同店より購入（釧路産），**No.** 38 は同 9. 13. 同店より購入（釧路産），5 月のキチジ・・・・同 5. 26.（八戸沖産），28. 同店より購入，9 月のキチジ・・・・同 9. 9. 同店より購入（閖上産），7 月のバラメヌケ・・・・同 7. 10. 同店より購入，9 月のミズダコ・・・・同 9. 22.（閖上沖漁獲）同 9. 23. 入手。

Table 1. Content of V·B–N and V·A–N in bottom fish and pH value and freshness test of Amano's method.

Species	V·B–N	V·A–N	pH*	Reaction**	
				A	B
マガレイ *Limanda angustirostris*	10.68	trace	6.4	+	±
	8.40	—	6.6	+	−
	7.84	—	6.3	+	+
	5.60	—	6.4	+	±
ヤナギガレイ *Microstoma Kitaharae*	7.28	—	6.2	+	±
	7.56	—	6.3	+	±
ミズガレイ *Xystrias grigorjewii*	11.20	—	5.8	+	±
	11.20	—	5.8	++	+
	11.20	—	5.8	++	+
チダイ *Evynnis japonica*	18.76	—	6.3	+	+
	18.76	—	6.3	+	+
	16.52	—	6.1	++	+
	17.08	—	6.2	++	+
	13.44	—	6.4	+	±
	8.12	—	6.4	+	±
	17.36	trace	6.5	+	±
	14.56	—	6.5	+	−
	15.12	—	5.4	+	±
	13.44	—	5.8	++	+
	12.88	—	5.8	++	+
	12.88	—	5.8	+	+
キチジ *Sebastolobus macrochir*	7.84	—	6.2	+	+
	8.96	—	6.6	+	±
	6.16	—	6.2	+	+
	5.04	—	6.2	+	±
	11.02	—	6.2	+	±
	14.28	3.92	6.3	+	±
	6.72	—	6.2	+	+
	6.16	—	6.2	++	+
	5.04	—	6.1	++	+
	6.72	—	5.9	+	+

V·B–N: Volatile basic–N, V·A–N: Volatile amine–N

* pH: Value by the test paper

** Reaction A, B: Reaction with solution A, which is 1% HgCl, Reaction with solution B, which is 1% HgCl containing 0.05% of glacial acetic acid.

結果，考察

TMAO と乳酸の含量および鮮度（V·B–N, V·A–N）と pH は **Table 2** に示すごとくであつた。

1. TMAO 含量について

堀江・関根[7]によると洄游魚であるキハダマグロが N として 2.0〜14.7 *mg*%，メバチが 3.3〜16.2 *mg*% で 5 *mg*% 前後のものが多く概して少い値を得ている。これに比べ，著者の研究によつて得られた底棲魚およびイカの含量は **Table 2** にみられるようにいずれも多いことが認められた。マガレイはほとんどが 20 *mg*% 前後，マダイは 9 月の稚魚よりやや大きい程度の試料で（ほとんど全筋肉を用いた）23 *mg*% 前後，5 月の試料で 40〜50 *mg*% 前後，キチジが 100〜130 *mg*%，一例だけであるがバラメヌケが 90 *mg*%，イカが 140〜180 *mg*% で，底棲魚中では深海性のもの程多くなるのではないかとみうけられる。先に著者等は[6]底棲魚が V·A–N の発生が早く，鮮度低下のはじめに V·B–N に比して多量であることをみ，これはトリメチルアミンオキサイド含量が多いためであろうと堀江・関根等の研究[7]を引用して推定したが，魚肉は鮮度低下のはじめに，まず **Achromobacter** によつて TMAO が還元されるといわれている[16]ことと相俟つて，この推定が肯かれると思われる。

2. 乳酸含量について

洄游魚については河端等がビンナガマグロについて行つた研究[14]があるが，鮮度測定に通常採取する部位

Table 2. Lactic acid and TMAO-N content in bottom fish and squid and octopus muscle. mg%

Month	Sample No.	Species	Weight g	V·B-N mg%	V·A-N mg%	Lactic acid mg%	TMAO-N mg%	pH
4	1	マガレイ *Limanda angustirostris*	202	10.76	0.49	212.5	27.75	7.00
〃	2		182	12.11	0.00	206.3	23.32	6.70
〃	3		162	10.09	0.49	197.5	17.43	6.55
〃	4		143	10.09	0.49		37.19	6.55
〃	5		142	10.09	0.00		27.80	6.50
〃	6		102	10.76	0.34	197.5	18.50	6.70
〃	7		93	10.99	0.22	200.0	15.94	6.60
〃	8		73	10.76	0.00	185.0	32.28	6.78
〃	9		72	10.09	0.00	175.0	18.84	6.78
〃	10		63	11.44	0.00	210.0	4.68	6.60
9	11			13.10	0.90	235.0	27.10	6.50
〃	12		130	20.32	0.45	272.5	18.52	6.20
〃	13		80	19.42	0.45	202.5	12.20	6.32
〃	14		75	21.68	0.23	210.0	9.71	6.30
5	15	マダイ *Pagrosomus major*	53	16.68	0.22	487.5	47.34	6.52
〃	16		51	15.47	0.39	482.5	48.05	6.60
〃	17		50	15.25	0.22	492.5	48.22	6.58
〃	18		50	16.82	0.45	492.5	43.51	6.40
〃	19		21	13.23	0.45	430.0	39.95	6.50
9	20		30	27.10	1.35	267.5	26.65	6.30
〃	21		20	25.07	1.58	215.0	23.71	6.42
〃	22		18	28.23	1.58	242.5	21.00	6.60
〃	23		16	25.29	2.26	200.0	21.23	6.50
〃	24		14	18.52	1.85	210.0	20.73	6.35
6	25	スルメイカ *Squid ommastrephes*	180	17.94	0.67	245.0	169.70	
〃	26		140	24.89	0.90	210.0	159.70	
〃	27		133	17.04	0.56	197.5	182.40	
〃	28		127	16.37	0.45	182.5	156.50	
〃	29		125	20.86	1.35	237.5	137.20	
〃	30		125	21.75	0.78	280.0	175.00	
〃	31		120	29.83	1.12	200.0	162.20	
〃	32		112	19.62	0.67	237.5	161.20	
〃	33		100	26.35	0.90	205.0	138.60	
〃	34		95	18.17	1.12	190.0	164.90	
9	35		260	33.42	5.98	192.5	157.06	
〃	36		330	26.20	0.56	210.0	153.00	6.22
〃	37		280	33.20	3.16	177.5	151.30	6.30
〃	38		160	39.06	3.16	172.5	172.98	
5	39	キチジ *Sebastolobus macrochir*	110	10.99	1.35		101.81	6.60
〃	40		103	9.31	0.22		112.81	6.55
〃	41		100	8.75	0.00		111.23	6.48
〃	42		93	9.20	0.22		107.42	6.58
〃	43		78	11.44	1.57		109.66	6.38
〃	44		70	13.68	1.57		100.69	6.62
〃	45		65	8.52	0.34		103.72	6.62
〃	46		55	9.42	0.90		114.82	6.60
〃	47		45	11.10	1.01		101.25	6.80
〃	48		44	13.90	2.47		101.59	6.90
9	49		365	9.71	0.00	57.5	130.97	6.80
7	50	バラメヌケ *Sebastodes baramenuke*	1190	14.80	1.70	190.0	90.00	7.10
9	51	ミズタコ *Octopus dofleini*	100	20.32	3.39	172.5	50.81	6.10
〃	52			15.81	2.03	107.5	34.10	6.00
〃	53	ユデミズタコ 〃 (*Boiled*)		15.81	2.48	100.0	42.66	

である背側胸鰭上部の筋肉で 1,000 *mg%* 前後の値であるが，これに比べると，マガレイが 180〜210 *mg%*，マダイが 500 *mg%* 近く（9月の稚ダイで 200〜270 *mg%*），イカが 180〜280 *mg%*，バラメヌケが 190 *mg%* であり，1/2〜1/7 程度で底棲魚およびイカは洄游魚より乳酸量が遙かに低い。4, 5, 6 月の試料は各魚種につき同一店の同一荷口のものであるが，測定試料の範囲内では，魚体の大きさに関係なく TMAO，乳酸の量は各魚種でほぼ一定の程度を示すように見受けられた。またイカではこのことが季節と産地にも関係なくいえるように見受けられた。9月のマダイは乳酸量，TMAO 量ともに5月のほぼ半量であるが，これは恐らく稚ダイであるためかと思われるが乳酸量と TMAO の含有比がほぼ一定であることは興味深い。なおキチジは油が多く蛋白質がこれに吸着して遠心分離しても透明な上澄液を得難く，測定値は同一試料で区々であり1例は沪紙での沪液についての値である。

Table 3. pH value of the mixed solution of TMAO and lactic acid.

Sample No.	Species	muscle pH	Lactic acid (1) mg%	pH	TMAO–N (2) mg%	(1)+(2) pH
7	マガレイ	6.60	200.0**	3.3*	15.94	4.00
8	*Limanda angustirostris*	6.78	185.0**	3.3	32.28	4.50
17	マダイ	6.58	492.5	3.01	48.22	4.10
19	*Pagrosomus major*	6.50	430.0	3.1	39.95	4.10
27	スルメイカ	6.40	197.5	3.3	182.40	5.50
29	*Squid ommastrephes*	6.60	237.5	3.2	137.20	5.30
50	バラメヌケ *Sebastodes baramenuke*	7.10	190.0**	3.3	90.00	5.15

** Amounts, used in mixed solution was 197.5 mg%.

3. TMAO 含量と乳酸含量が **pH** におよぼす影響について

以上のごとく底棲魚およびイカは洄游魚より TMAO が多く，かつ乳酸量が少いことを知つたが，このことが底棲魚およびイカの **pH** にどのように影響をおよぼしているかを知るためにつぎの実験を行つた。すなわち，魚肉の分析値に準じて TMAO と乳酸とを混合して **pH** をしらべた。その結果は **Table 3** のごとくで，TMAO が多ければ **pH** を中性側にもどす力が強くなることがうかがえる。混合に用いた TMAO は東京化成工業 K. K. 製で，乳酸は第一製薬 K. K. 製である。

また清水等[15]によれば，洄游魚のヒスチジンは約 1,000 *mg%* といわれているが，この程度のヒスチジンを蛋白やアミノ酸の代表として蒸溜水に含ませて底棲魚の乳酸量（若干少な目であつたが），TMAO 量，洄游魚の乳酸量，TMAO 量の差が **pH** にどのような差違をおよぼすかについて考察してみたのが **Table 4** である。TMAO 20 *mg* ではヒスチジン 958 *mg%* の存在において乳酸 156.2 *mg%* の **pH** に影響がないが，これは TMAO が **pH** 6.25 より酸性側に強い緩衝能を持つという須山の研究から 6.70 の **pH** に影響をおよぼさないことが当然首肯される。乳酸量が洄游魚のように多いと TMAO が 20 *mg%* と洄游魚の含有量より多くても **pH** はずつと下降することが明らか

Table 4. Effect of addition of TMAO and lactic acid on the pH value of histidine solution (958 mg%)

Kind of solution	pH
H_2O 20 *ml*. (1)	6.35
(1) + lactic acid 156.2 mg% (2)	3.78*
(1) + (2) + TMAO–N 20 mg% (3)	4.58
(1) + Histidine 958 mg% (4)**	7.90
(1) + (2) + (4)	6.70
(1) + (2) + (3) + (4)	6.70
(1) + (2) + (3) + (4) + lactic acid 932 mg%	4.25
N/10NaOH 11.8 *ml* (5)	12.80

** Neutralized HCl salt 191.6 mg with (5)

* **Table 3** と比較して高いのは蒸溜水中の炭酸ガスを駆逐しなかつたためその含量の差異と思われる。

である。以上のことから底棲魚およびイカが洄游魚に比較して新鮮時においても pH が高い原因の一部が首肯されると思う。そして **Fig. 1** に示すようにこれらの魚種においても昇汞沈澱反応はpH6.2附近以上で起ることが明らかなので底棲魚，イカが新鮮時に昇汞沈澱反応陽性を示す原因の一部は TMAO 含量が多く，乳酸含量が少いことに在ると考えられる。また大石によると[17]イシガレイ，**codling** のような底棲魚に属するものは遊離のヒスチジンがほとんどないことを示しているが，一般の底棲魚がそうであるならば，**Table 4** のヒスチジンと **pH** の関係から，相当強い緩衝能がヒスチジンにみられるので，底棲魚は **pH** の変化を受け易いことが考えられ，有力な原因をなすと思われる。今後の研究に俟ちたいと思う。

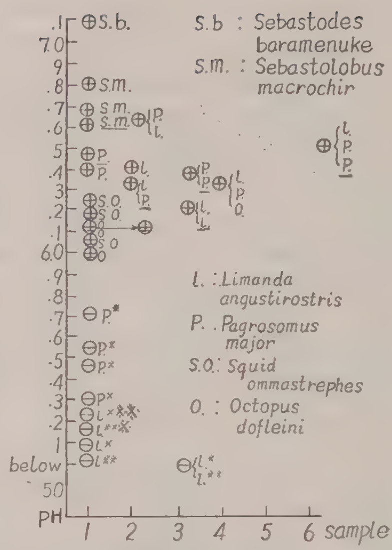


Fig. 1. Relation between the pH of bottom fish and squid muscle and the reaction A of Amano's test.
*, **, –, : Extracts with acidic (hydrochloric or lactic), or cold water.

総　　括

1. 底棲魚はイカ同様昇汞沈澱反応を用いる天野法で鮮度を判定することは新鮮時にも反応が陽性なため不可能である。

2. その原因について考察したところ底棲魚およびスルメイカは洄游魚に比較して TMAO 含量が高く乳酸含量が低いことに原因の一部があると思われる。

3. 底棲魚およびスルメイカの TMAO 乳酸含量は同一荷口のものでは大きさに関係なく魚種により一定の程度を示すように見受けられた。特にスルメイカは季節，産地にも関係が少いように見受けられた。

4. 底棲魚が V·A–N の発生が早く，鮮度低下のはじめに V·B–N に比して多量であることは，TMAO が洄游魚に比較して多量であるとが本研究により確認されたが，このことと魚肉は鮮度低下のはじめにまず **Achromobacter** によつて TMAO が還元されるということに原因するようである。

本研究に種々御助言を賜わり，本稿の御校閲を頂いた東北大農学部水産利用学教室土屋靖彦教授および終始理解ある御鞭撻を賜わつた当所長青木大輔博士に深く感謝します。また本調査に御協力頂いた宮城県公衆衛生課鈴木政志，幕田豊二郎，塩釜保健所田代昌男その他の各位に感謝する。

文　　献

1) 天野慶之・内山　均：本誌，**14**，48 (1948).
2) 天野慶之・内山　均：本誌，**14**，165 (1948).
3) 天野慶之・内山　均・富谷章子：本誌，**15**，262 (1949).
4) 衛生検査指針 III，pp. 52 (1951).
5) 高橋平馬・狩野正男・佐藤良裕：宮城県衛研報告 22 号，26 (1953).
6) 佐藤良裕・岩松礼三・高橋道太郎：本誌，**24**，544 (1958).
7) 堀江　進・関根　隆：*J. Tokyo Univ. Fish.* Vol. 42, 25～31 (1956).
8) 須山三千三：本誌，**24**，271 (1958).
9) 鴻巣章二・秋山明子・森　高次郎：本誌，**23**，562 (1957).
10) 高橋豊雄：本誌，**4**，91 (1935).
11) 須山三千三・小池淳三・鈴木和遠：本誌，**24**，283 (1958).
12) E. J. Conway：石坂音治訳，微量拡散分析および誤差論，南江堂，東京 (1952)，pp. 73～84.
13) H. J. Starch：*Klin. Wochschr*. 34, 153～155. (1956)
14) 河端俊治・藤巻正夫・天野慶之・富谷章子：本誌，**18**，124 (1952～1953).
15) 日引重幸・清水　亘：本誌，**24**，916 (1959).
16) 食品衛生研究 8，pp. 52 (1959).
17) 大石圭一：日本水産学会秋季大会シンポジウム，水産物のエキス，21～25 (1957).

STUDIES ON THE ORGANIC PHOSPHATES IN MUSCLE OF AQUATIC ANIMALS—VIII. PREPARATION OF INOSINIC ACID FROM SQUID MUSCLE

Tsuneyuki SAITO*, Minoru MATSUYOSHI**, Kenichi ARAI* and Yasuzo ITO***

(Received Dec. 15, 1959)

In the muscle of vertebrates, as is known today, inosinic acid (IMP) is principally formed from adenylic acid (AMP) by the action of 5'-adenylate deaminase which is found commonly in vertebrate muscles. In the previous papers[1),2)] it has been established that in squid muscle adenosine triphosphate (ATP), in the course of autolysis, is dephosphorylated rapidly with a concomitant accumulation of AMP, while scarcely any IMP is found. Furthermore the living muscle of squid was found to contain as high levels of ATP as muscle of mammals. From these results it will be reasonable to consider that the muscle is a good source of ATP, AMP or the products derived from them. The present paper reports a study on the preparation of IMP from AMP of squid muscle by the action of 5'-adenylate deaminase of fish muscle.

Experimental

Materials:

Freshly obtained mantle muscle of squid, *Ommastrephes sloani pacificus Steenstrup*, was used. Fresh muscle of some fishes, mackerel, *Scomber japonicus Houttuyn*, or carp, *Cyprinus carpio Linné*, was used as a source of 5'-adenylate deaminase.

Method of analysis:

Optical densities were measured with a Shimadzu Spectrophotometer, Model QB-50, using 1-cm. cells. Identification of the recrystallized sodium inosinate was carried out by determining the absorbance ratios, D_{250}/D_{260} and $D_{280/260}$, of the solution and by determining the phosphate content by the method of Bartlett (modified method of Fiske and Subbarow's)[3)].

Extraction:

One kg. of squid muscle and 50–100 g. of fish muscle were ground finely with 5 volumes of ice-cold water in a mechanical meat grinder. Incubation was carried out in a refrigerator at 0–5°C with occasional stirring for 2–3 hrs. (under these conditions the action of muscle nucleotidase or phosphatase is reduced markedly). To determine the degree of formation of IMP, 10 ml. of the reaction mixture were taken off several

* Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan.

** Hachinoheshokuhin Co. Ltd., Hachinohe, Japan.

*** Kushiro Branch, Hokkaido Gakugei Univ. Kushiro, Japan.

times at regular intervals. The enzyme activity was stopped by the addition of 10 ml. of 10 per cent perchloric acid and the mixtures were filtered. The ratios of absorption at 250 mμ per 260 mμ of these filtrates were calculated. When these values reached to about 1.2 the reaction was stopped by the addition of perchloric acid to make the final concentration of 4 per cent; then after thorough stirring the mixture was left overnight in a cold room. The mixture was filtered through three layers of gauze. The residue was stirred in 4 per cent of perchloric acid solution to extract the residual IMP. The combined extracts were clarified by filtration through filter paper. The procedures for preparation of IMP from these extracts, which are shown in Fig. 1,

Squid muscle 1.0 kg.
Fish muscle 0.1 kg.
Water 3.0 l.

ground in meat grinder.
held at 0–5°C. for 2–3 hrs.
added with perchloric acid to make final concentration of four percent and then filtered.

Filtrate ← Precipitate
washed with 4% perchloric acid
neutralized with potassium hydroxide solution.

Filtrate ← Precipitate
washed with water
added with 20% barium acetate solution filtered.

Filtrate | Precipitate (inorganic phosphate)
added with acetic acid to make pH 5.
added with mercury acetate (20% in 2% acetic acid).
centrifuged

Precipitate | Supernatant
added with water
treated with hydrogensulfide gas.
centrifuged

Supernatant | Precipitate
neutralized with barium carbonate to make pH 5.0–6.0
added with barium hydroxide to make pH 8.0 and held at 0°C

Crystal
IMP-Ba (about 2.6 g.)
added with calculated amounts of sodium sulfate solution.

Filtrate | Precipitate
added with about 5 volumes of ethanol

Crystal
$IMP\text{-}Na_2$

Fig. 1. Preparation of sodium inosinate from squid muscle.

are divided into three steps. The first is removal of inorganic phosphate as barium phosphate, the second is precipitation of IMP as mercuric salt and the last is isolation of barium inosinate. The details of these procedures were already described by J. Marmur et al[4].

Results

The yields of barium inosinate from squid muscle, which are shown in Table 1,

Table 1. Yields of barium inosinate from squid muscle.

Test No.	Muscle (g)		IMP-Ba (g)	IMP-Ba g/kg of Squid Muscle	Purity* (%)
	Squid	Fish			
1	1,180	118[1)]	3,097	2,624	
2	2.500	250[2)]	6,604	2,640	84.5
3	770	77[2)]	2,050	2,660	86.4
Mean value				2,642	85.5

* Determined by ionexchange chromatography.
1) Carp
2) Marckerel

were better than that from rabbit[4)]: the former was about 2.6 g. per kg. of muscle while the latter 1–1.5 g. From these results it can be seen that the activity of 5'-adenylate deaminase of the muscle of these fishes was almost the same. This was also ascertained on that of saury and of horse-mackerel. The barium salt, thus obtained, was recrystallized from water. The sodium salt was prepared from the barium salt by satisfactory removal of barium ion by the addition of calculated amount of sodium sulfate. The sodium salt can be purified by recrystallization from dilute aqueous solution with ethanol. The maximum absorption of the recrystallized sodium salt is at 249 mμ in phosphate buffer of pH 7.0. The absorbance ratios, D_{250}/D_{260} and D_{280}/D_{260}, are shown in Table 2. These are the same as the values shown by Kalcker.

Table 2. Absorbance ratios of sodium inosinate.

Nucleotide	D_{250}/D_{260}		D_{280}/D_{260}	
	pH 2.0	pH 6.0	pH 2.0	pH 6.0
Sample[a]	1.58	1.67	0.20	0.24
Standard[b]	1.58	1.68	0.20	0.24

a Recrystallized Na-inosinate prepared from squid muscle.
b H. M. Kalckar; J. Biol. Chem. **176**, 429 (1947).

The phosphorus content of the anhydrous sodium salt is as follows:

Test number	1	2
Sample	4.94 mg.	6.33 mg.
found	385 γ	494 γ
P (%) found	7.79	7.80
P (%) calculated	7.89	

From these results it can be concluded that IMP, by using these methods, may be prepared from squid muscle at fairly good yield as compared with that prepared from other animals.

Summary

By using the 5'-adenylate deaminase of some fish muscles IMP was prepared from squid muscle at fairly good yield.

Acknowledgment

We are extremely grateful to Miss T. Tanaka for her assistance with experiments on ionexchange chromatography. The financial support of this work by the Fisheries Agency is gratefully acknowledged.

References

1) Saito, T., Arai, K., and Tanaka, T: Nature **181**, 1127 (1958).
2) Saito, T., Arai, K., and Tanaka, T: Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ. **9**, 121 (1958).
3) Bartettt, G. R: J. Biol. Chem., **234**, 466 (1959).
4) Marmur, J., Schlenk, F., and Overland, R. N: Arch. Biochem. Biophys., **34**, 209 (1951).

自然水中のビタミン B_{12} に関する研究—VI.

水中における B_{12} 量の変動について

柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫

(1959 年 12 月 15 日受理)

STUDIES ON VITAMIN B_{12} IN NATURAL WATER—VI. CHANGES OF VITAMIN B_{12} CONTENT IN THE WATER

Ken-ichi KASHIWADA, Daiichi KAKIMOTO and Akio KANAZAWA*

It has already been described of that the vitamin B_{12} content in natural water varies with the conditions of sampling the water to be analyzed, such as the season of year, the time of day and the depth of water, etc. Since said variation is though, to have distorted the data thus far published about vitamin B_{12} content in natural water, a few confirmatory researches were made on this item, the following results being obtained.

(1) When samples of natural water (sea-water, river-water and drain-water) were separately placed in vases and kept in a dark place, B_{12}'s in these samples increased, attaining to their maximum contents likewise in 2 or 3 days and decreasing afterwards (see Table 1). This is a general tendency and may perhaps be attributed to the work of bacteria originally contained in the sample waters.

(2) Samples taken from upper layers (0～50 m in depth) of the water of *Lake Ikeda*, when kept in the conditions the same as those under which the above samples were stored, uniformly showed noticeable changes of vitamin B_{12} contents in first 7 days, while samples taken from deeper layers of said source (deeper than 50 m) showed increases of B_{12} only in first one day and decreased after that time to stational values which were not always strictly constant (see Table 3).

(3) In order to confirm the decomposition degree of B_{12} in sea-water by sun-light, the B_{12} solution was put into a polyethylene bag, and the bag was suspended for about 10 hours at different depth-layers of the sea (Dec. 5, 1958) with the following results shown in Fig. 1.

In a nutshell, at the surface layer (0～20 m) a considerable loss of B_{12} was to be seen, while at the depth of 30 m or more than that, hardly any was. Hereby it seems quite necessary for any researcher who attempts to examine B_{12} content or to make water-sampling of it that he should take the loss of B_{12} by sunlight effects into consideration.

さきに COWEY[1] は海水のビタミン B_{12} (以下 B_{12} と略記) 含量に季節的変化のあることを報告しており，著者ら[2] も湖水，河水の B_{12} 量が季節により，また時刻によつて異なり，さらに海水，湖水の B_{12} 量が深度によつて異なることを見，自然水中の B_{12} 量が様々の変動を見せることが知られた。このように水中の B_{12} 量が変動することについて，その原因，さらに B_{12} の起源，B_{12} が水域の生産力におよぼす影響など，海洋化学，水産生物学あるいは水産資源学などの分野から研究を要する問題が少なくないが，これらの問題と密接な関係があり，ないしはその一部に触れると考えられる水中の B_{12} の挙動について，二，三の実験を行つた。すなわち，まず自然水は天然状態において絶えず流動していて容易に成分変化の実態を掴み難いので，本実験では試水を貯蔵した場合，水中の B_{12} 量がどのように変化するかを検索したところ，試水の種類によ

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish. Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).

つて程度の差はあるが，いずれも相似た経過を辿つて変化することが判つた。つぎに B_{12} の安定性に関する事項として，海中各深度における B_{12} が日射によつて破壊される程度を測定し，表層部ではその著しいことが判つたので，以上の結果を報告する。

実 験 の 部

前記のように自然水中の B_{12} が色々の条件によつて変動することは明らかにされているが，これらの変動は実際水中において B_{12} 量の増減があつたのか，それとも B_{12} 含有量の異なる水の交替，去来によるものか明らかでない。そこで自然水中における B_{12} の消長を知るために，試水を容器に入れて放置し，B_{12} 量の増減を調べた。

1. 海水，河水を貯蔵する場合の B_{12} の変化

試水としては本学部前の海岸から汲み取つた海水，鹿児島市内を流れる甲突川の水，本学部近くの放水路の水を用いた。No. 3 東洋沪紙で沪過したこれらの試水約 400 ml を 500 ml 容褐色瓶に入れ，暗室内で約 25°C の温度に貯蔵し，その中から毎日1回一定時刻に採水し，細菌沪過管（規格 L 3）で沪過したものにトルオールを添加して冷暗所に保管しおき，最後の採水を了えた後，一勢に全採取試水の B_{12} を定量した。B_{12} の定量は *Euglena* 法によつたが，海水は筆者らのセロハン透析法によつて脱塩した後定量を行つた。

成績並びに考察

実験の結果は Table 1 の通りであつた。

COWEY[1] は海水中の B_{12} 含量の変動に関する研究の中で，海水を貯蔵するとその中の B_{12} 量が増加することを見，これを海水中の細菌による生産に帰しているが，筆者らの実験においては表に見られるように，貯蔵による B_{12} 量の変化は試料によつて程度の差はあるが，まず最初増加して（放水路の水では1日後やや減少したが）2〜3 日後最高値を示した後減少するという一様の経過を辿つている。すなわち自然水を貯蔵する場合にはその中で B_{12} の生産が行われる反面，その分解あるいは消費も行われることが推定される。この増減両変化の分別吟味はしなかつたが，少なくとも貯蔵の初期においては生産が減耗を凌いでおり，その後生産が衰ろえるか，あるいは減耗が生産を凌ぐようになるかのいずれかと考えられる。すでにこれまで海水中から多くの B_{12} 生産菌が分離されているが[3]，一方水産物の腐敗細菌に B_{12} 分解力の強いものの多いことも知られており[4]，さらに同一の菌で始め B_{12} を生産するが，後これを分解するもののあることも報告されているので[5]，自然水貯蔵の場合における B_{12} 量の変化にはこれら水中細菌の関与していることが想像される。

Table 1. Changes of vitamin B_{12} content in sea and river water stored in glass bottle at 25°C in the dark.

Time of storage (days)	Vitamin B_{12} ($m\gamma/l$)		
	Sea water	River water	Drain water
0	7.6	4.0	19.2
1	11.6	24.4	14.0
2	12.0	26.0	28.0
3	8.0	39.2	18.0
4	1.6	10.4	15.2
5	0.8	8.4	—
6	1.6	6.0	15.2
7	1.2	5.2	18.0

なお本実験では少量の試水をガラス瓶に入れて貯蔵したので，天然状態とはかなり異なつた条件に置かれていた訳である。ZO BELL, ANDERSON[6], LLOYD[7] らによれば海水を容器に入れて貯蔵する場合，その中での細菌の繁殖は水の容積が小さいほど旺盛であるので，上記 B_{12} 量の増減が水中細菌の起因するものとすれば，自然状態すなわち大量の水中における B_{12} 量の増減は本実験で示された値より遙かに低いであろうしまた野外では日光の影響も当然加味されるので，B_{12} 量変化の様相はそれら各要因の集計された結果の現われとして別の形をとるものと考えられる。

2. 池田湖の水を貯蔵する場合の B_{12} 量の変化

池田湖では水の移動が甚だ緩慢で，ほとんど静止に近い状態にあり，この点で海や河とはかなり趣きを異

にしている。1959 年 8 月 19 日，湖心附近で各深度から採水し，水質調査の外，前と同様の方法，条件に処理して貯蔵中における B_{12} の消長を試験し，次表の結果を得た。

成績並びに考察

Table 2 に試水の温度，溶存酸素，pH，B_{12} 量の垂直分布を示し，各試水を暗黒中約 25°C に貯蔵した場合における B_{12} 含量を Table 3 に示した。

Table 2 によると B_{12} 量そのものは少ないが，その垂直分布の形およびそれが溶存酸素のそれと類似していることは従来の調査結果と同様で，別に新現象は見られない。30m 以浅では深度による温度差が大きいが，これをすべて約 25°C の画一した温度に貯蔵した場合における B_{12} 量の変化を Table 3 によつて見ると，多少例外的と見える数値のふれはあるが，30m 以浅の表層部の水では共通した増減の傾向は見られない。しかし，50m 以深の水では 1 日後にやや増加し，2 日後には再び始めの量に近い値まで減少してその後はあまり変化がないという相似た増減経過を辿つている。なお池田湖の水，少なくとも本試験に用いた試水においては貯蔵による B_{12} 量の増減が，海水や河水に較べて遙かに少なかつたことが注目される。池田湖の周辺には人家も少なく排水その他汚水の流入も少ないために，細菌数が海水や河水より少ないのか，その原因は池田湖の水に B_{12} 量の少ないことの原因とともに研究問題になると思われる。

Table 2. Vertical distributions of water temperature, oxygen, pH and vitamin B_{12} content in the water of Lake Ikeda. (Aug. 19, 1959)

Time of sampling (h m)	Depth (m)	Water temperature (°C)	O_2 (mg/l)	pH	Vitamin B_{12} (mγ/l)
10.00	0	28.8	7.39	7.4	0.34
10	5	27.9	7.66	7.5	0.40
17	10	27.0	7.70	7.4	0.46
24	15	23.7	9.00	7.5	1.04
31	20	16.0	9.15	7.2	1.32
38	25	14.0	8.30	6.8	0.84
48	30	12.4	7.98	6.8	0.64
58	50	11.4	7.44	6.7	0.40
11.10	75	11.0	7.24	6.5	0.45
21	100	10.9	7.03	6.4	0.40
30	125	10.9	6.86	6.4	0.63
39	150	10.9	6.67	6.5	0.52
50	200	10.8	6.14	6.4	0.53

Table 3. Changes of vitamin B_{12} content in the water of Lake Ikeda, stored in glass bottle at 25°C in the dark. (mγ B_{12} per litre of water)

Depth (m)	Time of storage (days)						
	0	1	2	3	4	5	6
0	0.34	0.48	0.48	0.36	0.44	0.28	0.29
5	0.40	0.36	0.28	0.30	0.27	0.31	0.28
10	0.46	0.64	0.52	0.36	0.57	0.36	0.40
15	1.04	1.08	0.84	0.40	0.82	0.80	0.82
20	1.32	1.28	0.94	1.22	1.08	0.90	1.05
25	0.84	1.04	0.94	0.97	0.76	0.80	0.80
30	0.64	0.67	0.48	0.92	0.44	0.59	0.57
50	0.40	0.96	0.40	0.46	0.44	0.42	0.43
75	0.45	0.68	0.62	0.41	0.61	0.56	0.50
100	0.40	0.80	0.50	0.52	0.54	0.51	0.52
125	0.63	0.92	0.52	0.32	1.24	0.72	0.63
150	0.52	0.88	0.76	0.53	0.70	0.73	0.62
200	0.53	1.02	0.68	0.57	0.52	0.68	0.71

3. 水面下における B_{12} の安定性

B_{12} は日光に不安定で，筆者ら[8] もこのことについてさきに報告しているが，自然状態において日光がどの程度水中の B_{12} を分解し，またその分解作用は水面下どれ程の深さにまでおよぶものであるかについては未だ報告を見ない。このことは自然水中の B_{12} を論じ，あるいは B_{12} 定量のための試水の採取についても関連があるので，海中における B_{12} の安定性を知るためつぎの実験を行つた。

実 験 方 法

試料として武田製薬製フレスミンを原液として調製した B_{12} 水溶液をポリエチレンの袋に 100 ml 宛入れこれを下端に錘をつけたロープに結着して早朝日出前，海中各所定の深さに沈め，夕刻日没後に取揚げで B_{12} を定量した。同じ試料を暗所に同一時間放置したものを対照とした。この実験は 1958 年 12 月 5 日に行い，試料を海中に沈めたのが午前 7 時，日出 7 時 18 分，日没午後 5 時 2 分，5 時 30 分に試料を引揚げたが，天候は静穏快晴であつたので試料は約 10 時間それぞれの深さで日射を受けたわけである。実験は鹿児島湾で行つたが，その結果は Fig. 1 のごとくであつた。

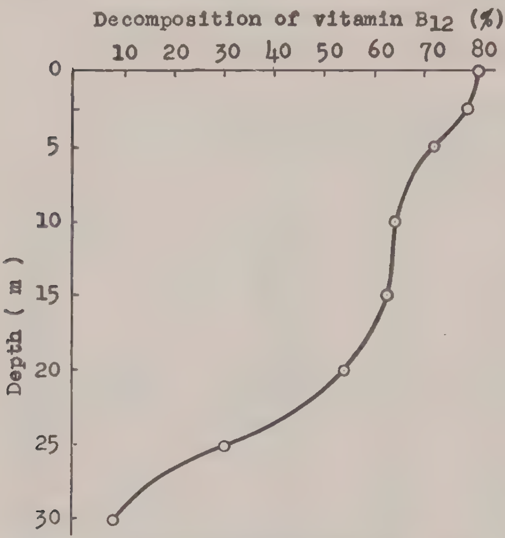


Fig. 1. Decomposition of vitamin B_{12} at different depths of the sea.
Vitamin B_{12} solution was put in a polyethylene sack and was submerged at different depths of the sea from sunrise to sunset for about 10 hours. (Dec. 5, 1958, at Kagoshima bay)

前記対照区の B_{12} 量は 52.5 mγ/l で，この値を基準として各試料における B_{12} の減少量を % で算出，B_{12} 破壊率として図示したが，この実験によると水面における破壊率が勿論最大で約 81% に達し水深 20m 以浅の破壊率は 50% 以上に達した。それ以深では急に破壊率が低下し 25m では約 31%，30m では約 9% であつた。この値が時季，天候，海水の透明度などによつて変化することは当然考えられるが，各深度における照度や透明度は測定しなかつた。要するに自然状態においては水中の B_{12} が日中かなり破壊されていることは確かで，一方においては前記のように B_{12} の生産が行われる反面，他方この種の要因による B_{12} の減少も起り，殊に表層に近い水域ではその作用も強大であることが判る。

摘 要

自然水中におけるビタミン B_{12} 量の変動を知るため水を暗所に貯蔵する場合における B_{12} 量の変化と，昼間海中で起る B_{12} の破壊について実験し，つぎのことを明らかにした。

（1） 海水，河水を瓶に入れ暗所で約 25°C に貯蔵すると B_{12} は増加して 2~3 日後最高値を示し，後再び減少した。増減の程度は Table 1 に見られるように試水によつて異なる。

（2） 池田湖の各深度の水を同様に貯蔵した場合の B_{12} の増減は Table 3 に見られるように海水，河水に較べて僅少であつた。表層部の水では一定した増減の傾向は見られなかつたが，深層部（50m 以深）の水では貯蔵 1 日後に増加し，その後再び始めの含量程度に減少した。

（3） B_{12} 溶液を昼間約 10 時間，海中各深度に保持して日光による B_{12} の破壊率を測定したところ，20 m 以浅では 50% 以上の破壊率を示したが，それ以深では比較的低く，30 m では約 9% の破壊率であつた。

本研究は昭和 33 年度農林漁業試験研究費から経費の一部を支弁して行つた研究の一つである。海中における B_{12} の安定性に関する実験を行うに当つては，かごしま丸零一等航海士外，乗組員諸氏の協力を得，また B_{12} の定量は主として吉峯紘君を煩わした。以上関係各位に対し深甚の謝意を表する。

附　記　海水透析用セロハン紙について

筆者らは海水の B_{12} を定量する場合の脱塩方法としてセロハン紙による透析法を提唱したが，市販のセロハン紙は質，孔径が必ずしも均一ではない。筆者らは専ら米国 VISKING 会社製 Seamless cellulose tubing (大阪市，白井松器械舗発売) を使用し，直径 21.4 mm (薄手) のものを用いる場合 3 時間の透析で支障なく Bioassay を行つている。本品を使用すれば満足すべき成績が得られるので参考のため附記する。

文　献

1) C. B. Cowey: *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* **35**, 609〜620 (1956).
2) 柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫: 本誌, **22**, 637〜640 (1957); 本誌, **23**, 450〜453 (1957); 鹿大水産学部紀要, **7**, 199〜205 (1959).
3) L. E. Ericson and L. Lewis: *Arkivf. Kemi.* **6**, 427 (1953).
4) 森　高次郎・橋本芳郎・前田安彦: APF 委員会記事録, No. 9 (1953).
5) 五十嵐久尚: 綜合研究報告 (農学篇), No. 14, 72 (1954).
6) C. E. Zo Bell and D. Q. Anderson: *Biol. Bull. Woods Holl*, **71**, 324〜342 (1936).
7) Lloyd: *J. R. Tech. Coll. Glasg.* **4**, 173 (1937).
8) 柏田外 4 名: 本誌, **24**, 591〜594 (1958).

コイ卵の脂質—I.

油脂の成分について

五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男

(1959 年 12 月 15 日受理)

EGG LIPIDS OF A CARP, *CYPRINUS CARPIO*—I.
FATTY OIL FROM CARP EGG

Hisanao IGARASHI, Kōichi ZAMA and Muneo KATADA*

The fatty oil was obtained as an acetone-soluble fraction from the lipids of carp egg. Composition of acids of the fatty oil presented in Table 4 was observed to have peculiarities to the depot fat of fresh-water fishes, while that of salmon egg had shown the marine-fish form. It is hence presumed that fatty acid constitution of the fatty oil in fish eggs are considerably affected by body depot fats.

The presence of n–C_{18} alcohols and C_{21} glyceryl ethers were found besides cholesterol in the unsaponifiable metter.

著者らは水産動物卵の脂質成分の研究として，アブラツノザメ卵[1]，スケトウダラ卵[2]，タラバガニ卵[3]，サケ卵[4]のごとき海産のものについて得た結果を報告してきたが，これらと比較する意図で淡水魚であるコイ *Cipinus carnio* の卵脂質成分の検索を行い二，三の知見を得た。本報では卵の油脂（アセトン可溶性脂質）の成分についてのべ，レシチンについては次報にゆずる。

コイ卵油脂の脂肪酸組成は前記の海産動物卵の油脂のそれらと異り，C_{22} の高度不飽和酸含量がきわめて低く，C_{18} および C_{20} の不飽和酸に富み，LOVERN[5] のいわゆる淡水産魚類の体脂肪の型を示すことを知つた。

実験および結果

脂質抽出液などの溶剤溜去，濃縮のごとき操作はすべて減圧下炭酸ガス気流中で行つた。沃素価は Wijs 法，ステリンはジギトニン沈澱法，プロビタミンDは外山らの方法[6]によつた。試料は北海道大学水産学部七飯養魚場にて得たものを用いたが，これは特に投餌せず，飼育条件は天然コイと大差ないと考えられた。

（1） 油脂（アセトン可溶性脂質）の分離

試料の処理法は概略 Fig. 1 のごとくである。コイ *Cyprinus carpio* の卵 1560 g を5倍量のアセトンで4回室温で抽出，抽出液よりアセトンを溜去，エーテルで抽出してエーテル可溶性脂質 69 g を得た。アセトン抽出した卵の残渣に4倍量のエタノールを加え，30 分間還流冷却器を附して加熱沸騰させ，熱時沪過する操作をくりかえして合計 10 回抽出を行つた。エタノール抽出液を合しエタノールを溜去，残渣をクロロホルムメタノール (2: 1) で抽出し，FOLCH[7] の washing を2回行つたのち溶媒を溜去して脂肪状物質 28 g を得た。このようにして得た2種の脂質成分をそれぞれ少量のエーテルまたはクロロホルム/メタノール (2: 1) に溶解し，約6倍量のアセトンで分別沈澱をくりかえして最後にアセトン可溶性脂質（油脂）32.1 g およびアセトン不溶性脂質（燐脂質）64.5 g を得た。この油脂の性状を Table 1 に示す。

* 北海道大学水産学部水産化学教室 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate).

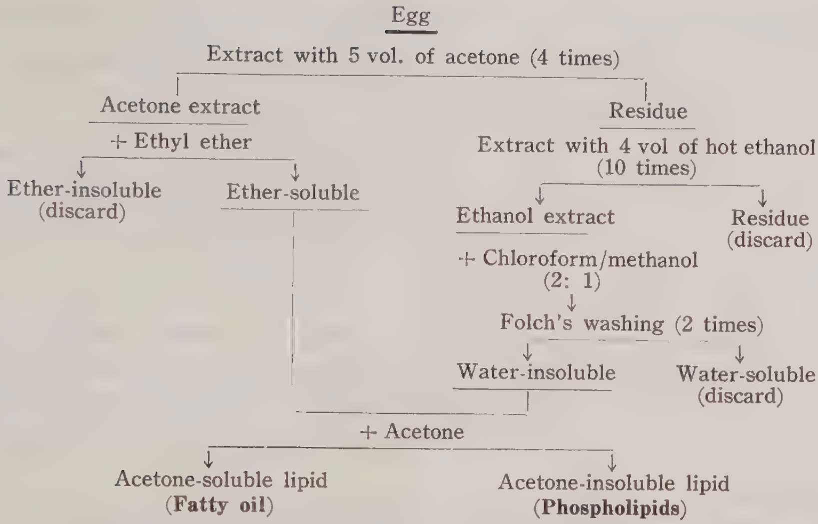


Fig. 1. Extraction and fractionation of lipids from carp egg.

Table 1. Properties of fatty oil from carp egg.

Yield, % from fresh matter	2.06
Appearance, at room temperature,	dark red, liquid
Specific gravity, d_4^{20}	0.9683
Refractive index, n_D^{20}	1.4885
Acid number	12.9
Saponification number	167.6
Iodine number	123.6
Unsaponifiable matter, %	22.01
Total sterols, % in unsaponifiable matter	77.71
Provitamin D, % in total sterols	0.77

（2） 脂 肪 酸

油脂 30g を常法により鹸化，エーテルで不鹸化物を抽出後，混合脂肪酸 19.4g (中和価 202.3，沃素価 150.7) を得た。これを常法によりメチルエステル (鹸化価 191.5，沃素価 136.7) とし，この 17.4g を精密に分溜して Table 2 の結果を得た。つぎに各溜分エステルを 20 倍量のアセトンに溶解，10 倍量の過マンガン酸カリウムを加え 2～4 時間還流して不飽和エステルを完全に酸化分解して酸性物質に変化せしめ，アセトンを溜去し，水を加えて亜硫酸ガスで過剰の酸化剤を還元しエーテルで抽出した。エーテル溶液は水洗後炭酸ナトリウム溶液で洗つて酸性物質を除き，水洗，乾燥後エーテルを溜去して定量的に飽和酸メチルを得た。飽和酸メチルの収量と鹸化当量を測定，これらと

Table 2. Fractional distillation of the mixed methyl esters of fatty oil from carp egg.

Fraction	B.p. °C/2 mmHg	Yield		Sapon. no.	Sapon. equiv.	Indine no.
		g	%			
1	160～165	2.3	13.2	211.3	265.5	58.1
2	165～168	3.4	19.5	196.7	285.2	82.8
3	168～173	3.4	19.5	190.2	295.0	105.7
4	173～180	2.0	11.5	189.0	296.9	115.3
5	180～190	2.4	13.8	186.7	300.6	145.4
6	190～200	1.1	6.3	180.5	310.9	164.8
7	200～210	1.6	9.2	175.9	319.0	265.1
8	Residue	1.2	6.9	172.9	324.6	293.3

その原溜分の鹸化当量，沃素価から不飽和酸メチルの諸数値を算出した。この結果を Table 3 に示す。

Table 3. Saturated and unsaturated esters of the faty oil from carp egg.

Fraction	Saturated ester: Yield, %	Sapon. equiv.	C no. of acid	Unsaturated ester: Yield, %	Sapon. equiv.	Iodine no.	C no. of acid	Unsaturation, −H
1	55.8	261.4	15.4	44.2	270.6	131.3	16.2	2.8
2	47.3	274.1	16.3	52.7	295.2	157.1	18.0	3.7
3	34.7	285.3	17.1	65.3	300.1	161.9	18.4	3.8
4	28.1	287.2	17.2	71.9	300.7	160.4	18.4	3.8
5	9.1	290.2	17.4	90.9	301.6	159.9	18.5	3.8
6	3.8	303.0	18.3	96.2	311.2	171.3	19.2	4.2
7	2.0	319.0	19.5	98.0	319.0	270.5	19.9	6.8
8	0.0	—	—	100.0	324.6	293.3	20.4	7.5

(3) 不鹸化物

油脂を鹸化した際に得た粗不鹸化物を再鹸化，エーテル抽出して不鹸化物 6.8g を得た。これを熱メタノール 250cc に溶解後冷却し，白色の結晶性析出物 4.6g を得た。これをアセトンから再結晶して m. p. 146～7°，LIEBERMANN-BURCHARD 反応でコレステリンの反応を呈する結晶を得た。メタノール上澄液およびアセトン結晶母液に含まれる部分を回収し，その 3.2g をアルミナカラム (2×40cm，メルク製アルミナを 400°C に 2 時間加熱した) を用いクロマトグラフを行つた。溶媒は石油エーテル，石油エーテル/アセトン (5: 1)，メタノール各 100cc を用い，6 画分を得た。主な画分は第 2 区分 (石油エーテル，収量 2.1g，アセチル価 168.2，沃素価 128.4) と第 6 区分 (メタノール，収量 0.8g，アセチル価 260.9，沃素価 43.5) であつた。第 2 区分は LIEBERMANN-BURCHARD 反応陽性で，コレステリンを含むもののようであり，減圧蒸溜を行い b.p. 170～80° (5 mmHg) の油状物質 0.8g を得た。これを水素添加してエタノールから再結晶し，m.p. 55～6° オクタデカノールに該当する結晶を得た。原アルコールは n-C_{18} アルコールが主成分と考えられる。第 6 区分を水素添加してエタノールから再結晶して m.p. 61～2°，アセチル価 258.5 のバチルアルコールに該当する結晶を得た。原区分はバチルアルコールにセラキルアルコールのごとき不飽和成分をまじえたものと考えられる。

考　　　察

Table 2, 3 の結果から算出した脂肪酸の組成を Table 4 に示す。なお比較のためにサケ卵油脂[4]，コイ筋肉油脂[5] のそれらをも併記した。LOVERN[5] は海水産魚類の体脂肪が甲殻類プランクトンの油脂と同様の

Table 4. Fatty acid composition.

Fish	Fraction	Saturated, %: C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	Total	Unsaturated, %: C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	C_{22}	Total
Carp, *Cyprinus carpio*	Egg,* fatty oil	2.2	17.8	8.1	0.2	28.3		5.2† (2.7)	40.0 (3.7)	25.0 7.0)	1.5 (8.0)	71.7
Salmon, *Oncorhynchus keta*	Egg,** fatty oil	4.8	11.1	3.5	0.5	19.9	0.2 2.0)	13.2 (2.5)	36.2 (3.0)	20.1 (8.5)	10.4 (10.0)	80.1
Carp, *Cyprinus carpio*	Muscle,*** fatty oil	3.7	14.6	1.9	—	20.2	1.0	17.8	45.8 (3.2)	15.2 (6.9)	—	79.8

* Present study. ** Zama et al[4]. *** Lovern.

† The numbers in parentheses are a measure of the unsaturation and indicate the number of atoms of hydrogen required to saturate the fatty acid.

傾向の組成を有し，ともに C_{22} 高度不飽和酸を 10% 以上含み，これに対して淡水産魚類の体脂肪は C_{22} 高度不飽和酸をほとんど含まず，緑藻類の油脂の組成に似ていることを報告してをり，Table 4 にあげたコイ筋肉油脂もその代表例の 1 つである。コイ卵油脂の脂肪酸組成をみると，C_{22} 不飽和酸が僅かに 1.5% であり，著者らがさきに報告したサケ卵油脂[4] がいわゆる海水魚型の傾向を有するのに反してかなり顕著に淡水魚型の傾向を表わし，コイ筋肉油の方に近接していることが知られる。このことから魚体の蓄積脂肪は卵の形成に際して，あまり再合成の過程を経ることなく卵のグリセリドとして移行することが推測される。また不鹸化物成分は海産魚の卵と比較して特に異質なものとはみとめられない。

総　　括

コイ卵油脂の脂肪酸と不鹸化物の成分を検索した。脂肪酸組成はいわゆる淡水魚の体脂肪型の傾向を有し卵油脂の脂肪酸組成は体脂肪からほぼそのまま移行することが推論された。不鹸化物の大部分はコレステリンで，ほかに C_{18} アルコールと C_{21} グリセリンエーテルが存在した。

本研究は文部省科学研究総合研究費により行つた。

文　　献

1) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男： 農化，**29**，454 (1955)； 本誌，**21**，244 (1955).
2) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男： 農化，**30**，566，568 (1956).
3) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男： 本誌，**22**，358，363 (1956)； 農化，**31**，4，8 (1957).
4) 座間宏一・片田宗男・五十嵐久尚： 本誌，**24**，569，739 (1958～9).
5) J. A. Lovern: *Biochem. J.*, **26**, 1978 (1932); **28**, 1961 (1934); **29**, 847 (1935); **30**, 387 (1936); **31**, 755 (1937); **32**, 1214 (1938).
6) 外山修之・高木　徹： 日化，**75**，1241 (1954).
7) J. Folch, I. Ascoli, A. Lees, J. A. Meath, F. N. Le Baron: *J. Biol. Chem.*, **191**, 833 (1951).

魚介および藻類蛋白質の有効性リシンについて

馬 場 春 夫

(1959 年 12 月 15 日受理)

ON THE AVAILABLE LYSINE IN PROTEIN OF FISH AND ALGAE

Haruo BABA*

On the evaluation of the nutritive value of food protein, the availability of amino acids in them is an important factor to be duly considered. Most of the lysine resources in Japanese foods are fish proteins. So, in this report, the available lysine in the proteins of several species of marine aniamals, along with that of algae such as *Chlorella* and *Scenedesmus*, which are being remarked as new protein resources, was determined as well as chages of it by heating, browning reaction with glucose and reaction with acetaldehyde were studied. The available lysine was estimated by the Carpenter's method, based on the determination of free ε-amino group of lysine in the protein, and the results obtained are shown in Table 1, 2, and 3.

As seen in these Tables, available lysine value of fish protein was about 8 and that of shellfish was a little lower than that. The value of the algae was ranged from 3 to 4.

These values of fish and shellfish lost about 10% by heating, and more than half by reactions with glucose and acetaldehyde.

蛋白質の栄養価は，それを構成しているアミノ酸の量と比率がきわめて重要な因子である他に，それらのアミノ酸の利用率が考慮されねばならない。われわれが食物中から摂取しているリシンは松野・西原[1]によれば，穀類より約 30%，魚介より 42%，獣肉卵乳より 10%，その他より 18% である。これは provisional protein[2] に対して約 120% の値を持つこととなり，制限アミノ酸としても第4位を占めるので，摂取面からはそれほど重要なものと考えられない。しかし上に述べた値はリシンの体内における利用もしくは有効性を無視して分析値より計算されたものであって，これを考慮した場合に如何なる値を示すかは，興味ある問題である。始めに述べた通り，魚介類はリシン源として最大のものであり，魚粉等における既往の報告[3]にも見られるように，種々処理，貯蔵条件等によって有効性リシン量，または利用率が変化をうけやすく，貝類については報告を見ないようであるので，これらを試料とし，また蛋白源として種々の面からその利用を検討されているクロレラ並びにセネデスムス[4]についてその有効性リシン量を定量した。さらに加熱，糖処理，褐変などに供う有効性リシン量の変化について検討した。

実 験 方 法

試料: 魚粉は市販品（さば）をさらに細粉としたものを使用した。藻類は凍結乾燥後細粉とした。貝肉は筋肉部若しくは可食部を水と加熱（pH 4.5），エタノール，エーテル処理，脱脂，粉末として試料とした。

有効性リシン測定方法: 動物性試料の場合— 25mg, N 相当量を秤取，4ml の 10% 重炭酸ソーダを加え，10 分間振とう，10% dinitrofluorobenzene (DNFB) エタノール溶液 1.5ml と 4.5ml のエタノールを添加2時間暗所にて振とう，湯浴にてエタノールを溜去，5.5N 塩酸 12ml を加え 110°C 24 時間，水解後，東洋沪紙 No. 2 にて沪過，水を加えて 50ml の定容となし，5ml をとり精製エーテル 20ml と4回振とう，40% NaOH 添加黄色を生じなくなることを確かめ，エーテル溜去後，氷醋酸と 40% の NaOH

* 国立栄養研究所 (The National Institute of Nutrition, 1-Toyamacho Shinjuku-ku, Tokyo).

にて pH 5±0.2 となし 50ml 定容後，これより 5ml をとつて水を加えて 25ml の定容となし検液とする。これを 435mμ にて ε-DNP-lysine-monohydrate monohydrochloride を標準として比色する。試料を用いず同様の操作をして得た吸光値を盲検として差引き算出する。

植物性試料の場合[5]——エーテル抽出後の水層をエーテル溜去後，2N 苛性ソーダ 1ml，8% 重炭酸ソーダ－炭酸ソーダ (2: 1 混液) 2ml を加え，振とう後，0.05ml の methoxcarbonyl chloride を加えて 10 分間振とう，0.75ml の濃塩酸を加え，5ml のエーテルで2回抽出，エーテル溜去後 1N 塩酸を用いて，10ml となし，435mμ にて，別に ovalbumin より得た DNP–NH·$(CH_2)_4$CH(COOH)NH·CO·OCH_3 を標準として比色測定する。数値は N 16g 当りで表わす。

試料の処理および色調の測定——糖処理はグルコースを試料に添加，所定温度および所定時間 (Table 3) 恒温器中に放置，褐変の模型的実験にはアセトアルデヒドを充分量添加，粉末試料の場合風乾後，所定の条件に置き，80 メッシュとして色調を測定した。色調の測定は粉末試料の場合にはベックマン 2580 Reflectance attachment により，500mμ における吸光度を測定した。

全リシン量——微生物法によつた。

実験結果並びに考察

1. 魚介および藻類の有効性リシンの定量

蛋白質中のリシンの有効性については種々の報告があり，GUPTA ら[6]は一定の基本飼料に種々のレベルにリシンを加えた飼料によるしろねずみの成長を標準とし，牛豚肉，大豆，魚粉，カゼインにおけるリシンの利用率を，OUSTERHOUT ら[7]は白色レグホンの成長により魚粉の種々のアミノ酸の利用率を測定している。著者が本報に用いた方法は CARPENTER[8] らの提示した方法であつて，蛋白質を DNP 化した場合，リシンの ε-アミノ基には DNP 化されるものとそうでないものとがあり，前者のみが有効で，この蛋白質で補足した飼料によるひなの成長とも大きな相関を示すところから，リシンの生物学的利用率の化学的測定方法として興味あるものと考えたのである。BALIGA ら[9] も DNP 化法による有効性リシンが棉実油粕によるしろねずみの成長と関係のあることを報告している。本法の検討については著者ら[10]また牛乳に対する適用の詳細な検討が足立[11]によつて報告されている。著者の結果は Table 1 に示すように魚粉，魚肉の値は既往の生物学的あるいは化学的方法で測定された獣肉または魚粉の値とほぼ一致し，7.6〜7.9 であつた。貝類蛋白ではいずれも一般に魚肉に比較して低い値を示したが，ハマグリの中腸腺のみは高い値を得た。藻類についての値は Table 2 に示すが，全リシン量に比して

Table 1. Available lysine in fish.

Sample	N %	Available lysine g./16 g.N	Total lysine g.16 g.N	Availability %
Fish meal	11.92	7.60	8.65	87.5
〃 heated	12.83	6.85	—	79.5
Tuna liver meal	12.70	5.49	7.25	75.6
〃 extract (concentrate)	8.40	5.46	5.39	101.0
Cod	12.90	7.90	9.50	83.2
Baby clam	13.60	6.45	8.20	78.5
Oyster	12.19	6.17	7.10	87.0
Corbicula	12.69	4.40	7.42	59.6
Hen clam Adductor	13.90	6.67	8.60	77.5
〃 Foot	13.41	7.61	8.70	87.1
Clam	12.19	6.04	7.61	79.5
Clam liver (mid gut gland)	11.00	8.90	—	—

Table 2. Available lysine in algae and soybean meal.

Sample	N %	Available lysine g./16 g.N	Total lysine g.16 g.N	Availability %
Chlorella	9.25	2.96	4.71	63.5
Scenedesmus	11.05	3.20	6.90	54.4
Protein extracted from *Chlorella*	13.71	3.92	6.10	64.2
〃	13.00	3.89	5.80	67.7
Soybean meal	8.03	4.24	5.04	83.2

有効性リシンの値は近く，したがつて利用率は大豆に比しても相当低い値を得た。これはCell-free 化によつて相当向上することが認められる。

2. 処理に伴なう有効性リシンの変化

食品中の蛋白質は加熱その他の処理によつてその栄養価が低下することはすでに認められているところであるが，その低下がリシン含量の変化，またはその有効性の変化によるという報告も多い。加熱カゼインの酵素によるリシン遊離速度の変化[12]，フイブリン[13]，セルローズ[14]と加熱することによるリシン値の低下，魚粉の品質，処理，貯蔵条件による利用率の低下[7),8)]等，リシンの有効性と蛋白質白質の栄養価との問題は多いが，ここにはこれらと ε-アミノ基の遊離したリシン量との関係を検討するために，魚粉およびバカガイ蛋白の加熱，バカガイ蛋白質と糖との加熱処理，野中ら[15]の報告したアセトアルデヒドによる模型的褐変とそれに伴なう有効性リシン量の変化を測定した。その結果はFig. 1 および Table 3 に示す通りである。この結果によると，市販魚粉を15°C, 30 分加熱した場合，有効性リシンは約 10% の低下を示すが，バカガイ蛋白質では色調の変化も少く，有効性リシン量もほとんど変化を示していない。これは魚肉の場合に共存する成分の影響によるものと考えられる。Carpenter[8] によれば加熱魚肉は低温乾燥物に比して約 10% の低下を認められているので，著者の場合も新鮮時からすれば 20% 内外の低下は起つているものであろう。バカガイ蛋白質は純白色の物質であり，糖処理によりまたアセトアルデヒド処理により著しい褐変を生ずるが，色調の変化は糖処理の方が著しく，アセトアルデヒド処理の場合，前者に比して有効性リシンの変化が大きい，アセトアルデヒドによる有効性リシンの減少は，単純に ε-アミノ基とアルデヒド基との結合によるものと考えることは，リシンのみをアセトアルデヒドと反応させた場合，時間とともにリシンが減少し，

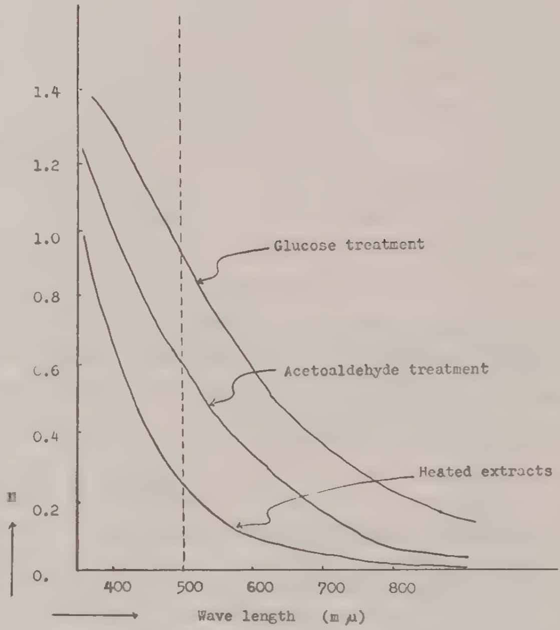


Fig. 1. Absorption curve of powdered sample treated (Hen clam adductor).

Table 3. Change of available lysine with some treatments.

Sample	Treatment	Available lysine g./16 g.N	Colour*** absorbancy (500 mμ)
Protein of hen clam	Control	7.61	0.15
	85°C 2 hr.	7.35	0.15
	〃 96 hr.	6.61	0.18
	Acetaldehyde* room temp. 2 hr.	3.10	—
	〃 85°C 2 hr.	3.07	0.40
	〃 〃 12 hr.	0.70	0.58
	Glucose** 85°C 12 hr.	4.50	0.94
Fish meal	Control	7.60	0.25
	150°C 30 min.	6.85	0.27
Casein	Control	8.10	0.12
	150°C 30 min.	7.61	0.24
	Acetaldehyde 85°C 2 hr.	0.81	1.4

* After shaking sample containing 25 mg.N with 2 ml acetoaldehyde, the latter was removed in air spraying.

** Sample containing 25 mg.N was shaken with four times glucose and 5 ml water.

*** Colour of powdered sample was estimated by measuring absorbancy (at 500 mμ) with reflectance attachment 2580 of Beckman's.

他に多数のニンヒドリン陽性物質を生ずること等と照応して，さらに検討を要するものであろう。また平行して観察したカゼイン溶液，および乾燥物での変化は有効性リシン，色調ともにその変化はバカガイ蛋白に比べてさらに著しく，また加熱によるカゼインの有効性リシンの変化は既往の諸家[12]の報告とほぼ一致を示すものであつた。糖処理による褐変がアミノカルボニル反応のモデル実験であり，アセトアルブヒド処理が野中ら[15]の述べているように油脂分解産物による褐変のモデル実験であると考えると，CARPENTER ら[8]が，魚粉の褐変および栄養価の低下が糖との反応の結果よりも，油脂の酸化による影響によるものの方が大きいと考えていることと一致して，興味深いものがある。なおここには貝類蛋白質を分離しているが，貝肉は一般にそのまま乾燥した場合著しく着色するもので，この際の蛋白中の有効リシンの変化も検討の要があると思われる。

要　　約

魚粉，魚肉，貝類蛋白質および藻類蛋白質の有効性リシンを定量し，魚粉，魚肉については 7.6–7.9 (g/16 g.N) を得た。貝類は魚肉より低い値を示し，藻類蛋白では 3〜4 であつた。

加熱，糖処理，褐変に供う有効性リシン量の変化を検討したところ，魚粉貝蛋白の加熱により約 10% の低下，貝類蛋白の糖処理にて約 40%，アセトアルデヒド処理による褐変においては 60〜85% の低下を示した。

終りに臨み，御指導頂いた栄養化学部田村盈之輔部長，実験に当り種々御援助頂いた田村敦技官，小島義樹技官，井沢照男氏に深謝の意を表する。

文　　献

1) 松野信郎・西原綾子： 栄養学雑誌, **16**, 193 (1958).
2) Protein Reqirements FAO Nutritional Studies No. 16, Report of the FAO Committee Rome Italy (1958).
3) CARPENTER, K. J., ELLINGER, G. M.: *Pault. Sci.* **34**, 1451 (1955).
4) 田村盈之輔・馬場春夫・田村　敦・小島義樹： 栄養学雑誌 **17**, 73〜121, 197 (1959).
5) BRUNO, D., K. J. CARPENTER: *Biochem. J.* **67**, 13i (1957).
6) GUPTA, J. D., DAKROUSY, A. M., HARPER, A. E., ELVEHJEM: *J. Nutrition*, **63**, 259 (1957).
7) OUSTERHOUT, L. E., GRAU, C. R., LUNDHOLM, B. D.: *J. Nutrition*, **69**, 65 (1959).
8) CARPENTER, K. J., ELLINGER, G. M., MUNRO, M. J., ROLFE, E. J.: *Brit J. Nutrition*, **11**, 162 (1957).
9) BALIGA, B. P., BAYLISS, M. E., LYMAN, C. M.: *Arch. Biochem. Biophys.* **84**, 1 (1959).
10) 馬場春夫・小島義樹・井沢照男・田村盈之輔： 国立栄養研究報告，昭和 33 年，印刷中.
11) 足立　達・中西武雄： 日農化，**32**, 728 (1958).
12) PADER, M., MELNICK, D., OSER, B. L.: *J. Biol. Chem.*, **172** 763 (1947).
13) SENTHESHANMNGANATHAN, S., HOOVER, A. A.: *Biochem. J.* **68**, 621 (1958).
14) STEVENS, J. M., MCGINNIS, J.: *J. Biol. Chem.*, **171**, 431 (1947).
15) 小泉千秋・黒部宗市・野中順三九： 本誌，**25**, 368 (1959).

ミシマオコゼ (*Uranoscops japonicus* HOUTTUYN) 肝臓中のアントラニル酸およびアントラニル酸誘導体について*

山田紀作・田中瑞穂

(1959年12月16日受理)

STUDIES ON ANTHRANILIC ACID AND ITS DERIVATIVE IN THE LIVER OF JAPANESE STAR-GAZER (URANOSCOPS JAPONICUS HOUTTUYN)

Kisaku YAMADA and Mizuho TANAKA**

For the purpose of utilizing fish-wastes, we determined aqueous vitamines in those materials and found that the liver of Japanese star-gazer (*Uranoscops japonicus* HOUTTUYN) contained a large amount of anthranilic acid and its derivative. The summary of the experimental results are described below.

(1) The anthranilic acid content of japanese star-gazer liver is from twenty to fifty times as much as those of other fishes or rats. While the nicotinic acid content is lower than those of other kinds.

(2) The anthranilic acid derivative described above is easily hydrolized by NH_2SO_4 at 80°C in 30 minutes and yields free anthranilic acid and other component not yet clear.

(3) The derivative seems to be a compound which combines with some component through the amino group, for the test by Ehrlich reagent is negative and the color of quinhydrone reaction is yellow, while the former test becomes positive and the latter reaction produces red after hydrolysis.

水産物中特に魚類廃棄物の高度利用のため，基礎的な研究として各種魚類肝臓中のビタミン類含量を測定したところ，分析中に東海産ミシマオコゼ肝臓において多量のアントラニル酸 (AA と略記す) と未知のアントラニル酸誘導体 (AAD と略記す) を検出した。哺乳類あるいは昆虫類体内の AA については過去幾多の研究がなされトリプトファンの中間代謝生産物であることが証明されているが，魚類についてこの点不明である。しかし，後述するように多量の AA あるいは未知の AAD を蓄積しておること，および AAD が哺乳類あるいは昆虫類などで現在まで検出されている生体内生成物とは異なることなどは特異な現象と思われる。上記廃棄物の高度利用とこれの特異的な現象を合わせて解明するために AA の代謝生産物といわれているニコチン酸，トリプトファンの代謝過程で直接 AA の生成に関与するキヌレニナーゼの補酵素であるピリドキシン[1) の含有量についてミシマオコゼと他の数種の魚類とを比較検討し，また AAD の構造について二，三の分析を行つたので報告する。

実　　験

実験材料：実験に供した魚種は長崎魚市に水揚げされた直後の新鮮なものでマサバ *Scomber japonicus*. マアジ *Trachurus japonicus*. ブリ *Seriola quinqueradiata*. マダイ *Pagrosomus major*. キントキダイ *Priacanthus macracanthus*. ミシマオコゼ *Uranoscops japonicus* を使用し，それぞれの魚類の

* 本研究の大要は 1959 年 10 月 25 日，日本水産学会全国大会 (大阪府) において発表した。
** 西海区水産研究所 (Seikai Reg. Fish. Res. Lab., Nagasaki, Japan).
西海区水産研究所業績 第 118 号

肝臓および普通筋肉を使用した。

I. 各種ビタミン含有量について

1. 定　量　法

ピリドキシン:　藤田・松浦・藤野による螢光的定量法[2]。

ニコチン酸:　Kodicek 法[3),4)]。この場合ニコチン酸アミドも含めてその総量を測定した。

アントラニル酸:　大谷・本田反応による方法[5a)]。ただし大谷・本田反応を実施する前に試料液に H_2SO_4 を約 1N となるように加えて湯煎中で 80°C, 30 分加熱し，後述の AAD を加水分解して AA となし，遊離のと合わしてその総量を測定した。

2. 定量結果

定量結果は Table 1 のごとくであつた。表よりミシマオコゼ肝臓中の AA, AAD 総量は他の魚類あるいはネズミに比較して 20〜50 倍の濃度で含まれており，筋肉においても比較的に多い。つぎにニコチン酸については AA とは逆にミシマオコゼの場合が少くなつている。ピリドキシンについては特異な傾向は見られない。

Table 1. Aqueous vitamin contents of marine fish and rat.

Species		Organs	μg. in 1g of muscle and liver		
			anthranilic acid	nicotinic acid	pyridoxine
Scomber japonicus	HONSABA	muscle liver	1.83 4.95	114.4 915.0	2.5 43.2
Trachurus japonicus	MAAJI	muscle liver	1.83 5.02	40.2 —	3.0 80.0
Seriola quinqueradiata	BURI	muscle liver	0.22 2.42	46.6 460.6	2.5 10.0
Pagrosomus major	MADAI	muscle liver	3.83 16.66	20.1 605.0	8.0 —
Priacanthus macracanthus	KINTOKIDAI	muscle liver	2.83 7.10	62.8 —	1.8 9.6
Uranoscops japonicus	MISIMAOKOZE	muscle liver	5.55 121.70	10.9 190.0	1.1 21.6
Rat	NEZUMI	muscle liver	6.0[5b)] 28.0[5b)]	81.0[6a)] 148.0[6a)]	1.2[8b)] 29.0[5b)]

II. ミシマオコゼ肝臓中の AA および AAD について

Table 1 の結果よりミシマオコゼ肝臓中に多量の AA が含まれていることが判明したので，その分離を試みたところ AA と，その誘導体 AAD を分離した。

1. 抽　出　法

新鮮なミシマオコゼ肝臓約 300g に倍量の熱湯を加え 80°C, 10 分加熱後 homogenize し再び 80°C, 30 分加熱し，固形物は遠沈除去し，上澄液を室温まで冷却する。冷却後 N H_2SO_4 で pH を 6.5 とし，液体浸出器を用いて一昼夜エチルエーテルで抽出をすると移行した AA, AAD のためにエーテル層は紫色の螢光を放つ。上記エーテル抽出液を蒸溜水で 2〜3 回水洗後 N/5 NaOH 約 30cc とともに分離ロート内で振盪し静置すれば AA, AAD はアルカリ層へ移行する。これはエーテル層の螢光の消失により容易に判別される。つぎにアルカリ層を取出し弱酸性とし，再びエーテルで抽出すれば一応中性脂肪と分離した AA, AAD の粗エーテル溶液が得られる。

2. P·P·C による精製

上記のエーテル溶液を東洋沪紙 No. 52 (40×40 cm) の下部に帯状に塗布し 3N NH_4OH を飽和した BuOH 9容と無水 EtOH 1容を混和した展開剤で 17 時間室温で展開後風乾し，紫外線を照射すれば Rf. 0.26 (C_1) に紫色，Rf. 0.51 (C_2) に青白色の螢光を発する spot が検出される。それぞれの spot を切り取つて沪紙片が浸る位の無水 EtOH あるいはアセトンで逆流クーラーをつけ 30 分間微沸騰させ抽出する。アセトン抽出液を時計皿に取り室温でアセトンを蒸発させれば C_1 は黄色葉状に C_2 は無色針状に結晶する。

3. 化学的性質

上記の C_1, C_2 が AA であるかどうかを知るためにつぎのごとき定性反応および分析操作を試みた。

a) Ehrlich 試薬 (Ehr 試薬と略記す) に対する反応。

b) Quinhydrone 反応[7] (Quin 反応と略記す)。

c) P·P·C 分析。

展開剤 I： 3N NH_4OH 飽和 BuOH＋EtOH (9: 1)。

展開剤 II： BuOH＋AcOH＋水 (4: 1: 5)。

d) 紫外部分光分析　日立製 EPU-2 型分光光度計使用。

e) 螢光特性　同上螢光測定装置使用。

それぞれの実験結果を Fig. 1 と Table 2 に示す。

C_1: Ehr 試薬に対して黄色を示し，また Quin 反応は赤色であることから芳香族アミンと考えられ，紫外部吸収曲線，Rf 値，融点，螢光特性から当物質はアントラニル酸 (o-aminobenzoic acid) と推定される。

C_2: Ehr 試薬に対しては negative であるが，加熱すれば黄色となる。Quin 反応は黄橙色であり Ehr 試薬におけるように加熱してもその色調は変化しない。これは Ehr 試薬中に含まれている H_2SO_4 のためと考えられるので上記抽出法で調製した C_2 のアル

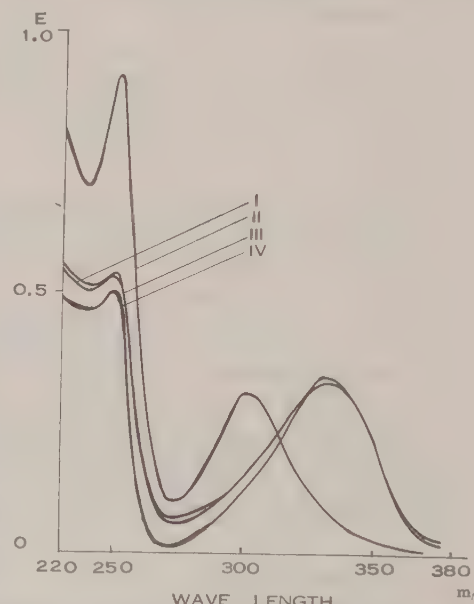


Fig. 1. Ultra-violet light absorption spectra of anthranilic acid (I), its derivative (II), and hydrolysate of the derivative (III) from star-gazer liver. Commacial anthranilic acid in 99.5% EtOH. (IV)

Table 2. Properties of the anthranilic acid and its derivative from star-gazer.

Samples	Chemical tests		Rf value		M.P. (°C)	Fluorescence λ_{max} (mμ)
	Ehrlich test	Quinhydrone reaction	I	II		
Anthranilic acid derivative from star-gazer liver	negative	yellow	0.51	0.92	150～152	425 (pale blue)
Hydrolysate of the above derivative	positive	redishviolet	0.26	0.92	144～146	410 (violet)
Anthranilic acid from star-gazer liver	〃	〃	0.26	0.92	144～146	410 (violet)
Anthranilic acid (commercial)	〃	〃	0.26	0.92	144～146	410 (violet)

Solvent of (I): BuOH saturated with 3N NH_4OH + 99.5% EtOH (9: 1).
Solvent of (II): BuOH + AcOH + distilled water (4: 1: 5).

コール溶液に H_2SO_4 濃度が約 1N になるように H_2SO_4 を加えて逆流クーラを附し，湯煎中で 80°C, 30分熱後中和濃縮し，P·P·C で展開，紫外線を照射して螢光の有無を調べたところ Rf. 0.51 の spot は消失し 0.26 に紫色の螢光を放つ物質を検出した。当物質について上記の定性反応および分析操作を試みた結果は Table 2 のごとくであり，Ehr 試薬に対する反応，Quin 反応，Rf 値等 AA と一致し，また紫外部吸収曲線 (Fig. 1) も 300 mμ 附近の λ_{max} が 320 mμ 附近に移動して AA のそれと一致し 250 mμ と 320 mμ との吸収比も酸分解後は AA での吸収比と大体同じになつていることから当物質は AA であり，C_2 は AA の誘導体であることが明らかである。また酸による分解の前後での Ehr 試薬に対する反応および Quin 反応の色調の変化から当 AAD は AA のアミノ基にある物質が結合しているものと考えられるが，その結合物については今後検討し報告する。

考　　察

哺乳類あるいは昆虫類においては正常な場合トリプトファンはキヌレニンから 3-オキシキヌレニン，3-オキシアントラニル酸を経てニコチン酸への代謝される[8-11]。またキヌレニンから直接アントニル酸を経て 5-オキシアントラニル酸となり，その酸化物であるキノニミンカルボン酸と酸化還元系を形成する[12]ともいわれているが，過剰のアントラニル酸はそれ以上代謝されず抱合グルクロン酸として泄出せられる。一方微生物，すなわち Pseudomonas のある菌種ではアントラニル酸はカテコールを経てシスーシスームコン酸から β ケトアジピン酸へとベンゾール核を開裂する代謝経路を持つている[13),14]。魚類についてはこのようなトリプトファン代謝の詳細は明らかではないが，キヌレニンを経てニコチン酸となることはそれぞれの代謝物が検出[15]されるので哺乳類と同じような代謝経路を持つていると想像されるが，しかしミシマオコゼの場合はアントラニル酸の誘導体が現在まで動物体内で検出された諸種の誘導体と異なり，そのアミノ基が誘導化されており，このことはニコチン酸含量の僅少なことと考え合わして動物あるいは微生物とはアントラニル酸の代謝様式が異つているのではないかと考えらる。また廃棄物の高度利用の面ではアントラニル酸が哺乳因子としてのビタミン L_1 と同じ生理的効果[16]があるので妊娠中の家畜とくに仔育率の悪い家畜に対して有効な餌料と思われる。

要　　約

1)　ミシマオコゼ肝臓中にはアントラニル酸およびその誘導体が他の魚類あるいはネズミに比較して 20～50 倍の高濃度で畜種されている。これに反しニコチン酸含量は低い。

2)　同肝臓よりアントラニル酸およびその誘導体を分離結晶化し同定した。

3)　上記誘導体はアントラニル酸のアミノ基にある物質が結合しており，N H_2SO_4 中で 80°C, 30分加熱すると分解しアントラニル酸を生ずる。

文　　献

1)　JAKOBY, W. and BONNER, D.:　*J. Biol. Chem.* **205**, 699 (1953).
2)　藤田秋治:　ビタミン定量法，南江堂，335 (1955).
3)　桂・榊田:　ビタミン，**6**, 904 (1953).
4)　KODICEK:　*Biochem. J.* **34**, 712 (1940).
5a)　鈴木梅太郎:　ビタミン，日本評論社，473 (1950).
5b)　鈴木梅太郎:　————, 480 (　　).
6a)　佐橋佳一・他:　ビタミン学，金原出版株式会社，757 (1956).
6b)　佐橋佳一・他:　——　　, 751.
7)　船久保英一:　有機化合物確認法 (下巻)，養賢堂，10.
8)　KOTAKE und MASAYAMA:　*Z. physiol. Chem.*, **243**, 237 (1936).
9)　A, BUTENANDT *et al.*:　*ibid.*, **279**, 27 (1943).
10)　C, HEIDELBERGER *et al.*:　*J. Biol. Chem.*, **184**, 589 (1950).
11)　R, SCHAYER *et al.*:　*ibid.*, **195**, 657 (1952).
12)　古武彌四郎・古武彌人:　大阪医学雑誌，**41**, 1028 (1942).
13)　R, STANIER *ci al.*:　*J. Bact.*, **59**, 137 (1950).
14)　須田正己・他:　酵素化学シンポジウム，第1集，73 (1949).
15)　未発表.
16)　鈴木梅太郎:　ビタミン，日本評論社，463 (1950).

水棲生物における P^{32} の吸収および代謝に関する研究—II.

マミズイトミミズに吸収された P^{32} の各種酸可溶性燐化合物への分布*

小林邦男・大山重信・富山哲夫

(1959 年 12 月 17 日受理)

STUDIES ON ABSORPTION AND METABOLISM OF P^{32} IN AQUATIC ORGANISMS—II.

INCORPORATION OF DIRECTLY UPTAKEN P^{32} INTO VARIOUS ACID-SOLUBLE PHOSPHORUS COMPOUNDS OF *RHIZODRILUS LIMASUS* (HATAI)

Kunio KOBAYASHI, Shigenobu ŌYAMA and Tetsuo TOMIYAMA**

Several studies were reported on the separation of the acid-soluble nucleotides in fish tissues[2-5] and an earthworm, *Lumbricus terrestris*[6], by the ion-exchange chromatography.

However, no works have been made, in the aquatic organism, of the fractionation of directly uptaken phosphorus from the medium into various phosphorus compounds. The present study deals with the incorporation of absorbed P^{32} into various acid-soluble nucleotides when a sludge worm, ***Rhizodrilus limasus***, is exposed to P^{32} labeled water.

The acid-soluble phosphorus compounds which were extracted from the P^{32} labeled sludge worm with perchloric acid were fractionated into 13 fractions by a column chromatography according to the COHN and CARTER method[8] (Table 1 and Fig. 1). Inorganic phosphate, AMP, ADP and ATP which contained P^{32} were identified, based on the ultraviolet absorption curves (Fig. 2) and elution positions observed when the extract was added with $H_3P^{32}O_4$ and respective authentic nucleotides.

Thirty-six per cent and thirty-five per cent of P^{32} which existed in the extract were found in the inorganic phosphate and the adenosine polyphosphate fractions, respectively (Table 2). Excellent recoveries were obtained in this ion-exchange chromatography (Table 3).

I. 緒　　言

マミズイトミミズ, *Rhizodrilus limasus* (HATAI) によって水中から吸収された P^{32} が，最初酸可溶性燐化合物に入り，漸次核酸および燐脂質に移行蓄積することは，前報[1]で明らかにした。本研究では環境水からマミズイトミミズに吸収された P^{32} が酸可溶性燐化合物中にどのような形態で存在しているかを COHN 等のイオン交換・クロマトグラフィー[8]によって追究した。その結果 260 mμ における吸光度 (E_{260}) からは 11 個，radioactivity からは 10 個の分画がえられ，各種燐化合物への P^{32} の分布の模様の大部分が分つたので報告する。

イオン交換・クロマトグラフィーによる魚肉の酸可溶性燐化合物の分画については斎藤等[2]，PER OLOV SVÄRD[3]，H. TSUYUKI 等[4]および藤田等[5]の報告があり，また NILSSON[6]はミミズ，*Lumbricus terrestris*

* 本研究の大要は昭和 34 年 10 月に日本水産学会秋季大会（堺市）で発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka).

から 14 個の酸可溶性ヌクレオチッドを分画しているが，各酸可溶性燐化合物の燐の挙動については明らかでない。

II. 実 験 方 法

1. 試料： P^{32} を含む水で培養したマミズイトミミズ約 2g をとり出し，P^{32} を含まない水でよく洗い，沪紙で水分を吸いとつた後，1.5g（約 100 匹）を秤量した。つぎにポリエチレンの袋に包み，ドライアイスとエタノールの混合でえた約 −50°C の冷媒に 5 分間浸漬し，凍結した。

2. 抽出： 抽出液としては一般に三塩化醋酸（TCA）と過塩素酸（PCA）の水溶液が使用されている。TCA は紫外部（特に 270 mμ 以下）において著るしい吸収を示すので，ヌクレオチッドの定量を妨害するが，PCA は紫外部の吸収もなく，またカリウム塩として容易に沈澱除去できる。因つて抽出液には 5% PCA 水溶液を用いた。抽出には日本精機製ホモヂナイザー（無負荷 20,000 rpm）を使用した。附属のガラス製カップ（容量 50 ml）に氷冷した 5% PCA 15 ml をとり，その中に前記の凍結した P^{32} イトミミズ 1.5g を入れ，カップの外側を食塩氷で冷却しながら全速回転で 2 分間ホモヂナイズした。抽出からレジンに吸着させるまでの操作は Table 1 に示した通りである。この操作はすべて氷冷しながら行つた。沪過には東洋沪紙 No. 6 を用いたが，PCA 液を沪過する際，僅かではあるが紫外部に吸収を有する物質が溶出してくるので，PCA 液でよく洗滌した後に使用した。抽出液の PCA は 5% KOH を加えて pH を 1.4〜1.6 に調整することにより，$KClO_4$ として大部分沈澱除去した。この処理によつて抽出液の E_{260} 値および P^{32} の減少は認められなかつた。PCA 除去をしなかつた抽出液では PCA の吸着帯がレジンの 1/2 以上を占めたが，除去処理後は 1/10 以下になり溶出における分離がよくなつた。

Table 1. Scheme for the preparation of acid-soluble extract from P^{32} labeled sludge worms and the treatment of the extract prior to percolating through the ion-exchanger.

P^{32} labeled *Rhizodrilus limasus*, 1.5g.
(frozen in dry ice-ethanol, −50°C)

+ 15 ml. of 5% PCA,
homogenized 2 min. while cooling with salt-ice,
and filtered.

Filtrate, 10 ml. — Insol. portion

pH adjusted to 1.4〜1.6 with 6 ml. of 5% KOH,
and filtered

Filtrate — Ppt. ($KClO_4$)

filled up to 25 ml. with distilled water.

24 ml. — 1 ml. (taken for measurement of radioactivity and optical density.)

pH adjusted to 8.6 with 0.3 ml. of 10% NH_4OH,
and filled up to 50 ml. with distilled water.

Adsorbed on a column of Dowex 1, X 2, 200〜400 mesh, Cl-form, 1.2 cm² × 12 cm.

3. イオン交換樹脂： Dowex 1, X 2, 200〜400 メッシュ（Cl 型）を常法[7]により活性化した後に使用した。樹脂量は 1.2 cm² × 12 cm であつた。

4. 溶出： Cohn and Carter[8] の非連続法によつて溶出した。すなわち，試料を吸着させたカラムに，0.01 M NH_4Cl + 0.1 M NH_4OH，0.01 M NH_4Cl，0.003 M HCl，0.01 M HCl + 0.02 M NaCl，0.01 M HCl + 0.2 M NaCl，1 M HCl の 6 種類の溶出液を記載の順序にそれぞれ 250 ml ずつ，0.7 ml/min. の速度で流した。流出液は 10 ml ずつとり，それぞれ E_{260} 値および radioactivity を測定した。

5. 吸光度： 日立製分光々度計 EPU-2 型で測定した。

6. radioactivity： 用いた計数管は神戸工業製 β 線用液浸 GM-413（窓厚 30 mg/cm²）であり，scaler

は同社製 SA-5 型であつた。この計数管で P^{32} 水溶液の activity を測定した場合の計数値は，同じ P^{32} 水溶液の 1 ml を試料皿にとり蒸発乾涸して低エネルギー β 線用端窓型計数管 GM-132 (窓厚 1.74 mg/cm²) で 1 cm の距離から計測した値の約8倍を示した。しかしこの液浸用計数管は 13 ml の試料を必要としたので，分画してえた 10 ml の試料に 2N HCl 5 ml を加えて radioactivity を測定した。この HCl の添加によつて測定試料の P^{32} が計数管の外壁および附属ガラス容器の内壁に吸着するのを防止できた。

III. 結果および考察

3 l の P^{32} 培養水 (radioactivity, 1.9×10^5 cpm; P 濃度, 100 γ/l; 水温, 21～22°C; pH, 6.4) に8時間培養したマミズイトミミズの酸可溶性燐化合物を，前記の方法で抽出し，レジン吸着および溶出を行つた。レジンに吸着させた試料はマミズイトミミズ 0.88 g (生重量) の PCA 抽出液に相当する。溶出液を 10 ml ずつとり，E_{260} 値および radioactivity を測定した結果は Fig. 1 に示す通りである。このカラム・クロマトグラフィーは非常に再現性がよく常に同じような elution pattern がえられた。Fig. 1 から明らかなように，E_{260} 値では A, B, ‥‥, J, K の 11 個，radioactivity では〔I〕,〔II〕, ‥‥,〔IX〕,〔X〕の 10 個の分画がえられ，両者のうちで8個の分画は同一溶出位置をもつていた。P^{32} を含まない PCA 抽出液 40 ml を 10 ml ずつに分け，その1区分は無添加区とし，残りの3区分にそれぞれ adenosine-5′-phosphate (AMP)* 1 mg, adenosine triphosphate (ATP)** 1 mg および $H_3P^{32}O_4$ (IP) 5×10^4 cpm を添加し，カラム・クロ

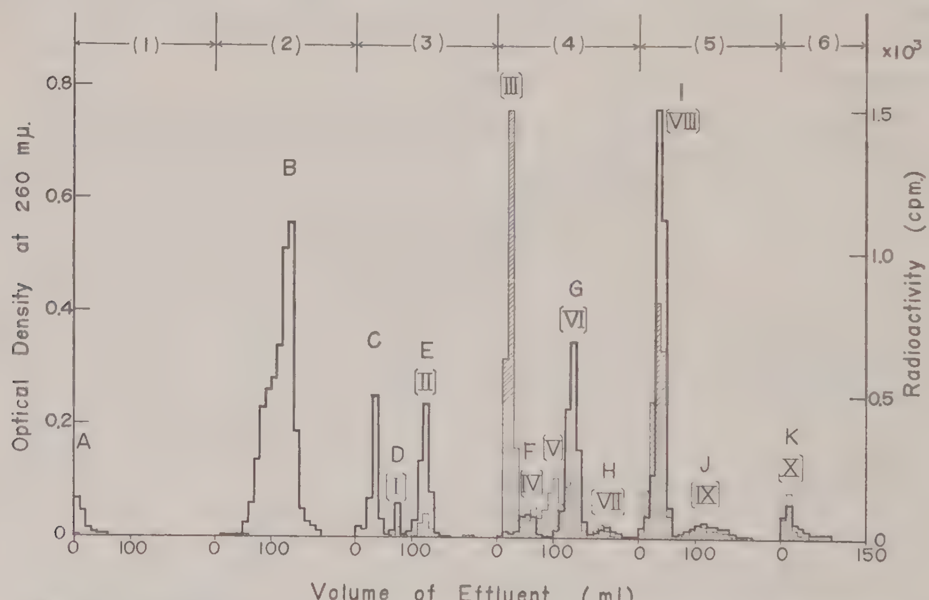


Fig. 1. Ion-exchange chromatogram for a perchloric acid extract of P^{32} labeled *Rhizodrilus limasus* (HATAI).

Bold line shows optical density at 260 mμ and fine line with oblique line indicates radioactivity. Sample solution subjected to the chromatography was a perchloric acid extract of 0.88 g. of fresh P^{32} labeled soludge worms. Sludge worms were exposed for 8 hours in P^{32}-water containing radioactivity of 1.9×10^5 cpm. and phosphorus of 100 γ/l. Temperature ranged from 21 to 22°C.

Exchanger: Dowex 1, X 2, 200～400 mesh, 1.2 cm² × 12 cm, Cl-form. Flow rate: 0.7 ml./min. Eluents: (1) 0.01 M NH_4Cl + 0.1 M NH_4OH, (2) 0.01 M NH_4Cl, (3) 0.003 M HCl, (4) 0.01 M HCl + 0.02 M NaCl, (5) 0.01 M HCl + 0.2 M NaCl, (6) 1 M HCl.

*, ** Nutritional Biochemicals Corporation 製，純度 99%.

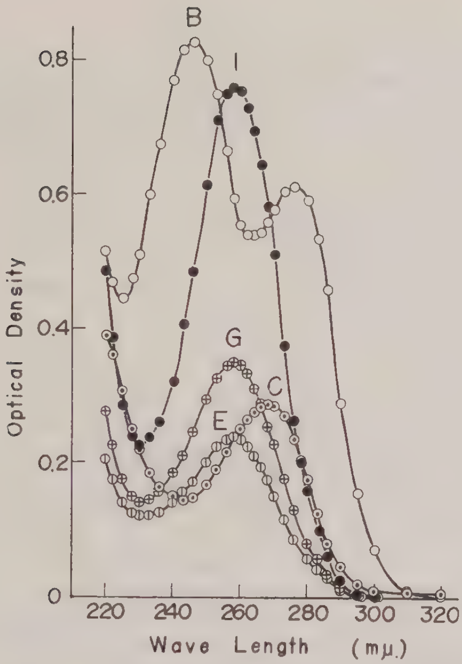


Fig. 2. Ultraviolet absorption curves for fractions obtained by ion-exchange chromatography (see Fig. 1).

マトグラフィーを行つたところ，AMP, ATP および IP の溶出位置はそれぞれ Fig. 1 の E, I および〔III〕と一致した。つぎに Fig. 1 において比較的大きな E_{260} 値をもつ B, C, E, G および I の紫外部における吸収曲線は Fig. 2 に示すようであつた。溶出位置と吸収曲線から Fig. 1 の E, G, I および〔III〕がそれぞれ AMP, ADP, ATP および IP であることはほとんど確実である。またBおよびCは恐らく guanine および xanthine であろうと推定されるが，その正確な同定についてはその他の分画とともに後に報告する。 Fig. 1 に示す各分画の E_{260} 値および radioactivity は Table 2 に示すようである。この表から明らかなように radioactivity では各分画中 IP〔III〕が最も大きな値を示し，全体の 35.5％ を占め， 残りの 64.5％ が有機燐として存在した。有機燐においては， P^{32} は ATP に最も多く incorporate され，その activity は全体の 27％，有機燐の 42％ に達した。このことは，環境水からイトミミズに吸収された P^{32} は ATP 等の高エネルギー燐として代謝に重要な役割を果していることを示す。

このカラム・クロマトグラフィーの回収率は非常に良好で， AMP*, ATP** および $H_3P^{32}O_4$ 単独の場合はそれぞれ 98％，97％ および 99％ を示し， 抽出液でも Table 3 のようにきわめて高い回収率がえられた。

Table 2. Values for E_{260} and radioactivity in various fractions separated by ion-exchange chromatography.

Fraction	E_{260}	Radioactivity (cpm)	Distribution of P^{32} (%)
A	0.288	7	0.1
B	2.475	10	0.1
C	0.455	0	0
D〔I〕	0.106	47	0.7
E〔II〕(AMP)	0.621	221	3.2
〔III〕(IP)	0.027	2,455	35.5
F〔IV〕	0.133	199	2.9
〔V〕	0.028	580	8.4
G〔VI〕(ADP)	1.003	588	8.5
H〔VII〕	0.100	196	2.8
I〔VIII〕(ATP)	1.707	1,858	26.9
J〔IX〕	0.232	418	6.1
K〔X〕	0.190	328	4.8
Total	7.365	6,907	100.0

Table 3. Recoveries of values for E_{260} and radioactivity when a perchloric acid extract of P^{32} labeled sludge worm was subjected to the ion-exchange chromatography.

	E_{260}	Radioactivity (cpm)
Starting material	8.550	7,047
Amounts adsorbed on the resin	7.835	7,027
Amounts percolated through the column	0.715	20
Amounts eluted from the resin	7.365	6,907
Recovery of elution (%)	94	98

IV. 総　　括

環境水からマミズイトミミズにより吸収された P^{32} が生体内の酸可溶性燐化合物のうちで，どのような化合物に転移しているかを追究した。P^{32} を含む水中で8時間培養したイトミミズの酸可溶性燐化合物を抽出し，これをイオン交換樹脂，Dowex 1, X 2 (Cl 型) のカラム・クロマトグラフィーによつて分画し，各燐合物への P^{32} 分布の模様を研究し，つぎのような結果をえた。

1. E_{260} 値から 11 個，radioactivity からは 10 個の分画がえられ，両者のうち8個は同じ位置に溶出した。

2. 酸可溶性燐化合物に incorporate された P^{32} の 35.5% は無機燐として，残りの 64.5% は有機燐として存在した。

3. 有機燐として存在した P^{32} の 42% は ATP に incorporate され，有機燐中最も大きな activity を示した。

本研究の一部は文部省科学研究費（綜合研究）の援助によつて実施した。ここに謝意を表する。

文　　献

1) 小林邦男・富山哲夫： 本誌，**25**, 576～580 (1959).
2) 斎藤恒行・新井健一： 北大水産彙報，**6**, 228～233 (1955). ——： 本誌，**22**, 569～573 (1957). ——： *Nature*, **179**, 820～821 (1957). ——： 本誌，**23**, 265～268 (1957). ——： *Arch. Biochem. Biophys.*, **73**, 315～319 (1958). ——： 本誌，**23**, 579～580 (1958).
3) PER OLOV SVÄRD： *Nature*, **182**, 1448～1449 (1958).
4) H. TSUYUKI, VIOLET M. CHANG and D. R. IDLER： *Can. J. Biochem. Physiol.*, **36**, 465～473 (1958).
5) 藤田孝夫・橋本芳郎・森　高次郎： 本誌，**25**, 147～152 (1959).
6) ROY NILSSON： *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1003～1012 (1957).
7) 吉川春寿・高橋泰常： 燐酸代酸実験法，広川書店 (1958).
8) WALDO E. COHN and C. E. CARTER： *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4273～4275 (1950).

立塩用食塩水の簡易回収法

榎本則行・泉外喜雄・富安行雄

(1959 年 12 月 17 日受理)

A SIMPLE METHOD OF REGENERATING THE SALINE SOLUTION USED IN BRINE SALTING

Noriyuki ENOMOTO, Tokio IZUMI and Yukio TOMIYASU*

A saline solution once used in brine salting is usually considered to be out of use, because the bacteria and the soluble matters from fish body are liable to bring about such a bad effects on the fish brined in the used solution that degrade the quality of the product. However, as a saline solution once used still contains a large quantity of salt, it is uneconomical to abandon the solution after using it only one time. In this point of view, the authors have devised a simple method of regenerating the used saline solution. This method and the results are outlined as follows:

1) After adding N/5 HCl at the rate of 0.9～1.0 cc. to 10 cc. of the used saline solution, the mixture is boiled for 30 min. and then added with 2% Japanese acid clay. The filtrate obtained in this way is available again for salting after adjustment of its salt concentration.

2) For convenience' sake, the filtrate is generally made saturated with common salt, from which saline solutions of desirable concentrations for reuse can be readily prepared by dilution.

3) The ratio of N/5 HCl to be added is constant irrespective of the concentration of used saline solution.

4) The result of application of regenerated saline solutions to salting test indicates that there is hardly any difference in quality between the products brined in the regenerated saline solution and those in the new saline solution. Dissolution of tasteful matters such as amino acid from fish body into the saline solution can be depressed.

現在一般に行われている塩蔵法には立塩法と撒塩法とがあり，この両者を併用する方法も行われているが，それぞれ一長一短は免れない。立塩法は食塩液が一様の濃度を保つので，食塩の滲透がほぼ均一で食味，外観，歩留りも良好，食塩濃度も任意に調節し得る等の長所を有するが，用塩量が大で大型容器を要する欠点もある。立塩法では使用食塩水を塩蔵の度に更新する場合と同一の食塩水を反覆使用する場合がある。同一食塩水を反覆使用すれば使用食塩量の節約と同時に蛋白質その他の溶出成分を飽和状態に達せしめ，爾後これら成分の溶出を減少させ香味を良好にする場合もあるが，逆に不快臭が抜けない欠点がある。また老化食塩水には腐敗細菌も相当に存在し，これが蛋白質を分解し NH_3 その他の分解生成物を生じて悪臭を発し，つぎの塩蔵の際に魚体に附着して不良品を作ることが多い。したがつて立塩漬では常に新しい食塩水を用いることが推賞されている[1)]。

しかし一度使用した食塩水はなお多量の食塩を含有し，これをそのまま廃棄することは大きな損失で，これが活用については当然考慮さるべきである。立塩用老化食塩水の再使用を企てるに当つては，溶出成分を完全に除去できれば理想的であるが，主体となる溶出蛋白質を完全に除去し，さらにでき得れば VBN（揮発性塩基窒素），アミノ酸等の除去が望ましい。この際問題になるのは老化食塩水中の腐敗細菌で，塩蔵中の魚体におよぼす悪影響を最小限に止どめねばならない。したがつて本研究は溶出蛋白質の除去，細菌数の減

* 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

少に重点を置いてなされた。

実 験 方 法

1) 原料魚としては市販のマイワシを用い，3% 食塩水で魚体表面を洗滌後，開腹せず，全魚体のまま立塩漬を行つた。食塩は市販の粗製塩を使用し，所要濃度に調製後沪過した。

2) 定 量 法

a) NaCl: N/10 $AgNO_3$ を以て滴定した値をそのまま NaCl に換算した。

b) 蛋白態窒素: 食塩水 100cc に 20% trichloroacetic acid 10cc を加えた際に生ずる沈澱を KJELDAHL 法で測定した。

c) アミノ態窒素 (NH_2–N): 除蛋白後の沪液に 10% K_2CO_3 および 15% $K_2(COO)_2$ を加えて 45°C で 90 分間通気後，VAN SLYKE 法で測定した。

d) 揮発性塩基窒素 (VBN): CONWAY の微量拡散分析法によつた。

e) pH: ガラス電極 pH メーター (日立製 EHM–1) を用いた。

f) 細菌数: Bouillon 寒天および 10% 食塩含有 Bouillon 寒天培地にそれぞれ稀釈法により培養したものの 48 時間後の colony 数を計測した。

実験結果および考察

I. 食塩水可溶蛋白質の等電域

食塩水可溶蛋白質の除去に当つては，pH を等電点に調節することが最も簡便であると考え簡易な滴定曲線による等電域測定法[2] を実施した。すなわち N/50 HCl 5cc に使用食塩水 5cc, 10cc, 15cc をそれぞれ加え，この各混合液に N/50 NaOH を 0.5cc ずつ加えてその都度混合液の pH を測定した。N/50 NaOH の添加量と pH の変化との滴定曲線を画き，2〜3 曲線の交点を求めてその等電域とする方法である。

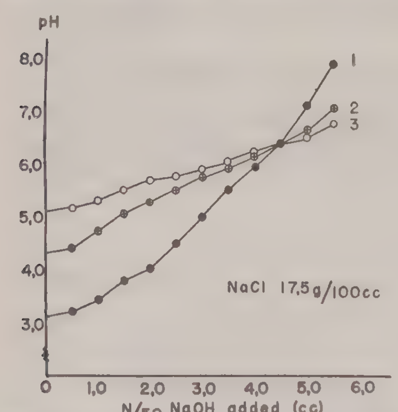


Fig. 1. Isoelectric zone of the protein dissolved into the brine from sardine.
1. N/50 HCl 5cc+Brine 5cc
2. N/50 HCl 5cc+Brine 10cc
3. N/50 HCl 5cc+Brine 15cc

鰮 (350g, VBN 11.4mg%) を約 20% の食塩水 700cc に室温 (13〜22°C) で 24 時間浸漬後，食塩水について上記の方法で等電域を求めた。結果を Fig. 1 に示した。

これによると等電域は pH 6.38〜6.40 にある。しかし使用後の食塩水の pH は 6.35 でほとんど一致していた。しかも食塩水は幾分濁つてはいるが沈澱は生じていないし，pH を 6.40 に調整しても変化はなかつた。この液の食塩濃度は 17.5g/100cc であつたから，このような高濃度の塩溶液中では，前記のごとき方法で求めた等電域は溶解蛋白質の最大沈澱を生ぜしめる pH を示していないことが分る。しかし pH を適当に調整すれば多量の蛋白沈澱を生ぜしめることが可能なことが分つたので，色々な食塩濃度において溶解蛋白質が最大不溶解性を示す pH を求めることが必要となつた。

II. 食塩水可溶蛋白質の除去

溶出蛋白質の最大不溶解性を示す pH は食塩濃度によつて変化すると考えられるので，約 5%, 10%, 15%, 20%, 26% の食塩水を用い，前回と同様の塩蔵を行つた。一例として 20%, 26% 食塩水中の溶出成分の測定値を Table 1 に示した。蛋白質以外にもかなりの溶出成分が認められる。

塩蔵後の食塩水 10cc に対し，N/5 HCl を添加した際の添加量と析出蛋白質の変化は Fig. 2 のごとくである，蛋白質の析出量は光電光度計を用いて −log T で表わした。すなわち −log T の大なるほど析出

Table 1. Some characteristics of the brines used at different concentrations in fish salting.

Hour of dips	Brine							Fish (Sardine)	
	NaCl g/100cc	Volume cc	pH	Protein-N mg%	VBN* mg%	NH_2-N mg%	Bacterial count /cc	Weight g	VBN mg%
0	21.9	780	7.34	0	0	0		390	11.8
20	17.1	794	6.32	13.1	3.43	16.7	$8.6\times10^4\sim1.2\times10^5$	380	16.1
0	28.9	590	7.22	0	0	0		295	11.8
20	25.5	610	6.12	11.6	2.37	15.9	$8.6\times10^4\sim9\times10^4$	281	15.6

Fish : brine = 1 : 2 (in weight)　　* VBN : volatile basic nitrogen.

量は大となる。

図において −log T が最大値を示す点の pH は，食塩濃度の高い方から順次 3.36，3.75，3.91，4.06，4.42 であつて，食塩濃度が高いほど pH は低くなつている。しかし N/5 HCl 添加量の点から見ると pH に関係なく，すべて 10cc 当り N/5 HCl 0.9~1.0cc 添加のところが最大不溶解性を示している。すなわち使用食塩水の除蛋白を考える場合，pH は考慮せずに常に食塩水 10cc 当り N/5 HCl を 0.9~1.0cc 加えればよいことが分り非常に簡便である。

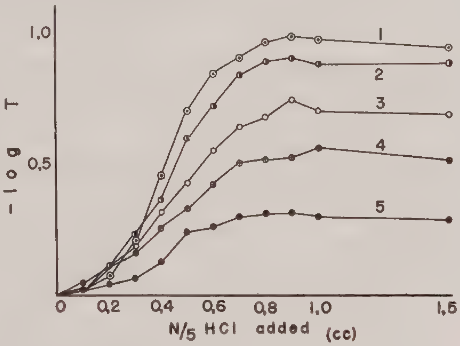


Fig. 2. Effect of salt concentration on precipitation of protein caused by adding N/5 HCl to 10cc. brine. Concentration of NaCl (g/100cc) (1) 4.8; (2) 9.6; (3) 13.3; (4) 18.7; (5) 27.9.

III. 除蛋白食塩水に対する吸着剤の効果

鰮 (VBN 18.6mg%) を 22 時間立塩漬した食塩水に N/5 HCl を所要量添加，30 分放置後一部を沪過した。沪液は完全に透明であるが微黄色を帯びており，これは血液に由来した色と思われる。脱色および Table 1 に示されたごとき VBN，NH_2-N 等の除去を目的として Celite，酸性白土，活性炭を加えてその効果を見た。結果を Table 2 に示した。

Table 2. Effect of adsorbent addition on some characteristics of a brine previously treated with N/5 HCl.

	Sample L*					Sample H*				
	NaCl g/100cc	VBN mg%	NH_2-N mg%	Protein§	Bacterial count /cc	NaCl g/100cc	VBN mg%	NH_2-N mg%	Protein§	Bacterial count /cc
Not added (Control)	16.1	4.33	20.4	±	5×10^2	24.6	2.49	19.3	±	
Celite 2%	15.6	4.15	18.8	±	3×10^2	24.4	2.49	19.3	±	
Celite 1%+Active carbone 1%	15.5	3.19	12.5	−	1.4×10^2	24.3	1.93	13.0	−	
Japanese acid clay 2%	15.5	3.29	17.5	−	3×10^2	24.3	2.28	17.3	−	
Japanese acid clay 1%+Active carbone 1%	15.5	2.94	14.8	−	2×10^2	24.3	1.81	12.5	−	

* Initial salt concentrations of sample L and H were about 20 and 26%, respectively.
§ Proteinous residue was tested with 20% trichloroacetic acid. VBN of the salted sardine was 18.6mg.%.

無添加および Celite 添加のものは微黄色に着色し 20% trichloroacetic acid の添加により蛋白沈澱がかすかに認められたが，他の3者は完全に無色透明であり，蛋白沈澱も認められなかつた。VBN, NH_2–N の吸着は活性炭使用によりかなり効果的であつたが，価格の点を考慮すれば酸性白土のみで充分と思われたので以後は酸性白土添加のみで行うことにした。VBN, NH_2–N は後述のごとく，その存在がむしろ魚体からの溶出を抑制する傾向が見られるので強いて除去する必要はないと考えられる。

細菌数については，回収処理前に 10^4〜10^5/cc 位存在していたのでやや減少しているのが認められるが，これはさらに減少せしめることが望ましい。高圧殺菌処理を行うことは実際的には困難であるが，煮沸処理でも菌数の減少は充分に期待し得よう。

IV. 塩蔵温度が異つた場合の食塩水の回収試験

本実験を行つた時期は2月から3月にかけてで室温は 15°C 前後であつた。夏期高温の場合は溶出成分量，細菌数等も変化し，冬期の実験例がそのまま適用し得るかどうか疑問である。そこで約 20% の食塩水を用い，室温および 30°C の孵化器中で塩蔵を行つた。測定結果は Table 3 に示した。

Table 3. Some characteristics of the brines used at different temperatures.

Condition	Hour of dips	Brine: NaCl g/100 cc	Brine: Volume cc	Brine: pH	Brine: Protein–N mg%	Brine: VBN mg%	Brine: NH_2–N mg%	Brine: Bacterial count /cc	Fish (Sardine): Weight g	Fish (Sardine): VBN mg%
Room temperature (14〜19°C)	0	20.4	810	7.30	0	0	0	4.8×10^2	810	10.9
	20	13.9	855	6.20	42.9	6.3	32.3	5.8×10^4 〜2.6×10^5	784	15.7
30°C	0	20.4	870	7.30	0	0	0	4.8×10^2	865	10.9
	20	12.6	955	5.80	34.6	14.8	96.9	8.6×10^6 〜1.2×10^7	802	36.4

Fish : brine = 1 : 1 (in weight)

塩蔵温度が異なる2種の食塩水に対し，それぞれ 10cc 当り 1.0cc の割合で N/5 HCl を添加後，細菌数の減少を目的として 100°C で 30 分間加熱した。凝固蛋白質は大部分液の上層に浮上する。これに酸性白土を 2% 添加して沪過した。沪液は室温塩蔵のものは完全に無色透明であるが，30°C 塩蔵のものはやや黄味を帯び微かにカラメル様の臭気があつた。しかしこの色は活性炭の添加により完全に除去できる。回収沪液中の溶解成分は Table 4 のごとくである。

Table 4. Some characteristics of the regenerated saline solution.*

	NaCl g/100 cc	pH	Protein–N mg%	VBN mg%	NH_2–N mg%	Bacterial count /cc
Room temperature	13.7	3.59	0	6.2	32.1	1.3×10^2
30°C	12.2	3.35	3.8	14.2	94.7	8.0×10^3

* 100 cc. brines in Table 3 were each treated with 10 cc. N/5 HCl and boiled for 30 min., they were then added with 2% Japanese acid clay and filtered. This filtrate was used as the regenerated saline solution.

溶出蛋白質の除去は加熱操作によつて影響を受けず，むしろ沪過が容易になるように思われた。VBN, NH_2–N の減少は Table 2 とは異なり，ほとんど認められなかつたが，これは加熱操作のためかどうかは不明である。細菌数は急激に減少し新しい食塩水とほとんど差がないようになつた。

V. 回収食塩水による塩蔵試験

上記の処理を施した室温および 30°C の回収食塩水に食塩を添加して一旦飽和溶液とした。実地で使用の場合回収食塩水の食塩含量を測定し，所要の濃度に調節することは面倒であるが，一旦飽和溶液としてから

稀釈すれば簡単に任意濃度の食塩水を作り得ると考えたからである。

室温および 30°C での回収飽和食塩水からそれぞれ約 20% の食塩水を調製（それぞれ A, B とす），別に新しく約 20% の食塩水（C とす）を作り，この 3 者による室温（12～19°C）塩蔵試験を行つたのが Table 5 である。

Table 5. Brine salting test of sardine with the regenerated saline solution.

	Hour of dips	Fish (Sardine) Weight g	Fish (Sardine) VBN mg%	Brine NaCl g/100cc	Brine Volume cc	Brine pH	Brine Protein-N mg%	Brine VBN mg%	Brine NH_2-N mg%	Brine Bacterial count /cc
A	0	605	11.9	20.6	580	4.40	0	3.6	17.6	
	20	570	17.9	14.0	620	5.79	25.4	6.4	45.5	3.9×10^4～1.8×10^5
B	0	750	11.9	21.1	750	3.70	0	9.9	54.9	
	20	697	16.4	14.7	820	5.24	20.2	12.6	67.4	6.3×10^4～1.0×10^5
C	0	730	11.9	20.4	730	7.40	0	0	0	
	20	670	17.2	14.7	780	6.23	26.2	5.6	33.5	1.9×10^5～2.5×10^5

A was regenerated from brine once used at room temperature.
B was regenerated from brine once used at 30°C.
C was a newly prepared brine.
A and B were first saturated with common salt and then diluted with water to a concentration of about 20% for brine salting test.
Fish : brine = 1 : 1 (in weight)

20 時間塩蔵後の魚体は，外観上 A と C はほとんど差がなく強いていえば C の方がやや腹部の光沢が良いように思われた。これに反し B は腹部の銀白色がにぶく一番劣つていたが，水洗後 1 日間乾燥したものでは 3 者の識別が困難であつた。乾燥品の試食においても，試食者は A, B, C 3 者の区別をつけ得なかつた。

使用後の食塩水は，A, C はともに溶出した血液の色を帯びているがかなりきれいであつたのに対し，B は呈色は同様であつたが濁りが激しく微粒子の懸濁が著しかつた。魚体への食塩滲透量，溶出蛋白量は A, B, C の間に大差はないが，むしろ B において溶出蛋白量が減少していた。VBN, NH_2-N の溶出量は新しい食塩水よりも回収食塩水の方が少い値を示したが，これは回収食塩水中に存在する諸成分によつて魚体からの溶出が抑えられたものと考えられ，魚体呈味成分の損失が少なくなることを意味して有利である。B において NH_2-N の溶出量が特に少ないのはこのことを裏付けるものといえよう。

Table 6. Some characteristics of the second regenerated saline solution.

	NaCl g/100cc	pH	Protein-N mg%	VBN mg%	NH_2-N mg%	Bacterial count /cc
D	13.9	3.75	0	6.2	42.7	1.3～4.7×10^1
E	14.6	3.72	0	12.4	60.8	2.1～7.1×10^1
F	14.6	3.70	0	5.2	28.1	2.5～3.8×10^1

D, E and F are the regenerated brines of A, B and C respectively in Table 5.

これら食塩水をさらに回収処理した場合の測定値を参考までに Table 6 に示した。いずれも無色透明で充分使用に耐える。また本実験における B は腐敗臭が激しく，魚体は腹が破れて腐敗初期の状態を示していた。このような悪条件の食塩水でも回収処理を施せば使用し得ることを実験的には示し得たが，産業的にはかなりの危険が伴なうものと考えられる。

本法で注意せねばならないのは，回収食塩水の pH が低いということである。塩酸または硫酸で pH を 3.5～4.0 に調節して塩蔵すると，従来の方法よりも著しく貯蔵期間を長くするということが専売公社の特

許[3]となつているが，本法は pH の点で偶然これに符合している。pH を下げることは製品の品質，食味，外観などには全然影響がなかつた。静岡県地方では鰺の開き立塩漬に使用した食塩水を加熱して再使用しているそうである[4]が，pH を調節せずに単に加熱するのみでは熱水可溶蛋白質がかなり沪液に移り溶出蛋白質の完全除去は不可能であつた。pH が低いことは塩蔵中の細菌の増殖を抑制するのではないかと期待したが，普通食塩水と比べて大差はなかつた。

A, B, C 3種の食塩水による塩蔵鰮は室温に約1カ月放置してその間の変化を外観的に観察したが，色調，黴の発生具合，乾燥速度，油焼等にほとんど全く差異を認め得なかつた。

要　　約

1) 立塩用食塩水の簡易回収法を考案した。要点はつぎのごとくである。

立塩々蔵に使用した食塩水 10cc に対し 0.9～1.0cc の割合で N/5 HCl を加えて30分間煮沸後，酸性白土を 2% 加えて沪過すればよい。

2) 沪液はさらに食塩を加えて飽和液とし，これから稀釈すれば所要濃度に調製することは容易である。

3) N/5 HCl の添加量は塩蔵に使用した食塩水濃度に関係なく常に上記の割合でよい。

4) 回収食塩水での塩蔵試験は新しい食塩水と大差がなかつた。むしろアミノ酸のごとき呈味成分の溶出は回収食塩水の方が少なかつた。

終りに本研究に有益な御意見を頂いた当教室豊水助教授に謝意を表する。

文　　献

1) 森高次郎・橋本芳郎: "水産利用学", 朝倉書店, 東京, (1952), pp. 175.
2) 吉村寿人: "pH の理論と測定法", 丸善, 東京, (1952), pp. 95.
3) 専売長官: 特許 No. 174580 (1947); 森・橋本: "水産利用学" から引用.
4) 静岡県水産試験場下田雄四郎氏談.

毒物に対する魚の反応に関する研究—I.

魚類の嫌忌反応を試験するための濃度傾斜槽

石　尾　真　弥

(1959 年 12 月 17 日受理)

THE REACTIONS OF FISHES TO TOXIC SUBSTANCES—I. NEW DESIGNED GRADIENT TANK FOR STUDYING AVOIDANCE REACTIONS OF FISHES.

Shinya Ishio*

A number of investigators have devised avoidance tanks of different types for studying the reactions of fishes to toxic substances, atmospheric gases or temperature (1)～(7). Those tanks were, however, not so convenient for the performance of studies as mentioned above, because of the unstability of toxic gradient formed, and the difficulty of operation for the tank to work properly. Especially, it made the accomplishment of the studies difficult to have to repeat the tests, making use of various concentrations of a toxicant and also exchanging used fishes for unused fishes in each test.

The present author has made a new designed gradient tank in which the concentration of toxicant introduced at one end decreased gradually with the distance that the stream moved down toward the outlet at opposit end. When fishes were put into the tank, they detected the unfavorable concentrations of toxic gradients and escaped away to the safe concentrations. The estimation of the concentrations of toxic substances which fishes avoid of, or prefer for has become, therefore, much easier than before.

This paper, thus, deals with the structure of the new tank and the gradients formed in it.

1931 年 Shelford および Allee[1] は両端からそれぞれ性質の異つた水を注入し，中央から排水する水槽を作つた。この水槽内では，二種の水は，一方から他方へ互いに拡散するので，排水口を中心に毒物の濃度傾斜ができる。しかし，実際には図に示されたような傾斜を与えず寧ろ層が重なり合い，研究には役立て難い。1938 年，Doudoroff[2] は多数の出入口をもつ傾斜槽を作つて，温度の傾斜に対する魚の反応を試験した。しかしながら，この水槽は甚だ複雑で，適当な温度傾斜を維持するために，出入する温水，冷水の調節が甚だ難かしいように思われた。1947 年に，Jones[3] は Shelford 等と同じ原理にしたがつて，水平に置かれた円筒形の水槽を作つた。この円筒内では，不安定な濃度傾斜は除かれ，毒物と清水の間の境界は寧ろ明瞭に保たれるように工夫された。遡つて，1922 年に Chidester[4] は毒物を含む水と清水が，各二つの細長い水路を通り，第三の水溜めに入るように水槽を作つた。魚は最後の水溜めからいずれの水路にも行き得るようになつているものである。同じ原理にもとずいて，1924 年に高安[5]，1939 年に大谷[6]，1956 年に Jones 等[7] がそれぞれ特徴のある嫌忌槽を考案した。しかしながら，従来のこれらの水槽を用いて嫌忌濃度を知るためには，注入毒物の濃度を変え，その都度供試魚を換えて，何度も試験を繰り返さねばならない。これは煩わしくて不便である。現著者は，一回，多くとも二回の試験で嫌忌濃度が判明できるように，新しい嫌忌槽を考案したので，その構造並びに水槽内に作られる濃度傾斜について報告することとする。

* 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka)

嫌忌槽の構造

新水槽の特徴は，Fig. 1 に示すように，水槽内が砂の層 (S) によつて上下二段に仕切られていることである。この水槽の下の段には清水を導入し，砂層を透して常に上の段に滲み出るようになつている。上の段の左端から毒物溶液を注入すると，砂層から出て来た水によつて稀釈され，右方へ進むにつれて益々稀釈され，水槽中に毒物の濃度傾斜ができる。この中に魚を放すと，魚は自身が嫌悪する濃度から退却するので，適当な濃度傾斜さえ与えれば，嫌忌濃度は容易に判明するわけである。これらの魚の行動を観察するために，水槽前面には厚さ 6 mm のプラステックの透明な板が用いられている。

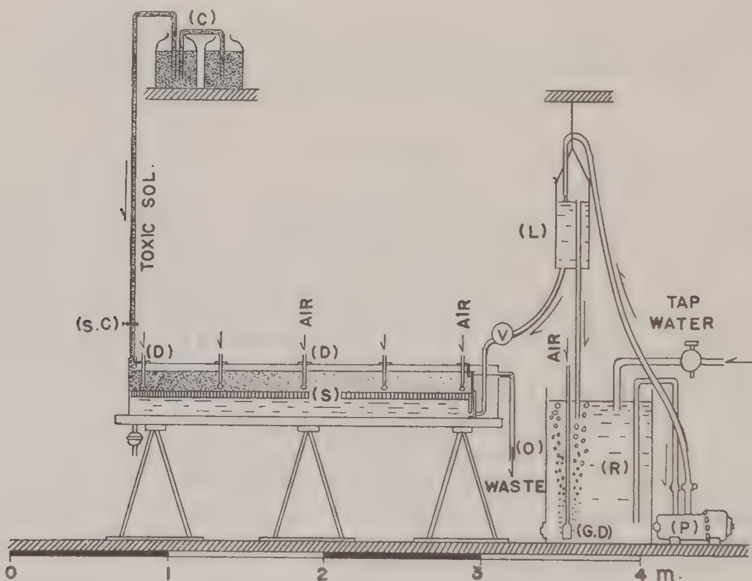


Fig. 1. Diagram of gradient tank used in studies of avoidance reactions of fishes.
(C) Container for toxic sol., (S. C) Screw pintch conk, (D) Diffusers, (S) Sand layer, (O) Duct for waste, (L) Level maintainer, (R) Reservoir of tap water, (G. D) Giant size diffuser, (P) Pump, (V) Valve.

水槽中で毒物の濃度傾斜が具合よく作られるためには，清水と毒物溶液の注入速度が変動しないことが望ましい。このために，清水はポンプ（P）によつて清水の貯槽（R）から，一旦水位保持槽（L）に揚げられ，そこから水量調節弁（V）を経て水槽内に供給される。毒物溶液を入れた壜は高所に置かれ，そこからスクリューピンチコック (S. C) を通つて水槽へ供給された。水位保持槽は弁（V）にかかる水圧を一定にするのに対し，毒物溶液を入れた壜の高い位置は，壜内の水位が低下しても，コック（S）にかかる水圧の変化を小さくするように働く。このために清水および毒物溶液の両方とも，一定の水圧をもつて各調節器を通過する。したがつて水槽への清水および毒物溶液の供給は試験期間中ほとんど一定に保つことができた。この水槽は長さ 235 cm，幅 30 cm，高さ 30 cm である。通常約 3 l/min. の速度で清水を供給し，40 乃至 80 ml/min. の速度で毒物溶液を供給する。このような条件では，水槽下段に供給された清水が，水平方向に動く速度は，最も速度の大きな右端で毎秒 1.4 mm 前後であり，水槽内下段の水は静水と看做し得る。したがつて砂層の下面に加わる水圧は，どの部分をとつても一定のはずである。この事実は，水槽の機能を水力学的に考える時に重要である。清水は砂層を通る時，比較的大きな速度で通過する。砂層を通る水の速度は，砂の粒子間の間隙が狭い程大である。したがつて砂の粒子が余り小さくなると，水の通過速度が大き

くなつて砂を吹き上げる。著者は 58 と 72 メッシュの篩で篩い分けた細砂を最初に用いた。この砂は幾分細過ぎるようであつた。後程 8 と 14 メッシュの間の粗砂を用いたが，効果はよかつた。砂はアルミアングルとアルミ棒からできた枠の上に，14 メッシュのアルミ網を敷き，その上に厚さ 2.5 cm の層になるように置いた。塩酸などを水槽中に流せば，これらのアルミ材料の腐蝕が心配されたが，砂層を通る時の水の大きな上昇速度のために，塩酸はこれらのアルミ材には達せず，聊かもその影響を受けなかつた。粗砂の代りに細砂を用いた時は，アルミ網の上にさらにナイロン布地を敷いたが，清水中の溶存ガスが，ナイロン布地の皺目を膨らませ，泡を吹き上げ，その跡に水が噴出した。どちらかといえば，細砂より粗砂を用いる方が実験を進める上に遙かに面倒が少い。

毒物溶液は一旦水槽の左端に設けた小さな貯槽に入り，貯槽の前面に等間隔に穿つた多数の小孔から出て清水と混ずる。水槽 5 ケ所の位置に設けた通気管からの気泡は，水の流れに溶存酸素を供給するのみならず，穏かな攪拌を与える。このために毒物溶液は，さもなければ流れの表面に拡がつて流れるところを，その位置で，上，中，下層よく混合し，濃度の間に差異がなく水槽内を流れ，水平方向には好ましい安定な濃度傾斜を与えた。このようにして毒物溶液は，砂層を透して出て来る水に稀釈されながら右へ進み，最後に堰を越え，導管（O）を経て外に排出される。堰の直前には，表面流を防ぐために，一枚のプラステック板が水の流れを横断して，水面に 1 cm の深さに挿入されている。

塩素滅菌を施した水道水を使用する場合には，Fig. 1 に示したような清水の貯槽（R）を少なくとも 2 個以上用意し，チオ硫酸ソーダを加えて残留塩素を分解しながら交互に水を使うことが望ましい。また溶存酸素の不充分な清水を使用する際には，大型の通気管 (G. D) を用いて通気することが望ましい。水槽および貯槽に送る空気は，圧搾ポンプまたは酸素ボムベ等を利用し得るが，水圧の強い水道水のところでは水流ポンプと 10 立程度の硝子壜を利用して容易に作り出すことができる。

毒物の濃度傾斜

水槽に注入される毒物の濃度を C_0 p.p.m.，注入速度を v_0 l/min. とすれば，毒物が定常状態を保つて流れる限り，水槽内のどの位置をとつても，その点の横断面を通過する毒物の量は一定であり，水槽に対して 1 分間に注入された毒物の量，すなわち C_0v_0 mg に等しい。この量の毒物が水槽を右方へ流れるにしたがつて砂層から滲み出る清水によつて稀釈される。今清水の注入量を v_w l/min. とすれば，堰を越えて流れ出る水の量は毎分，v_0+v_w l. である。砂層の全長を L cm とすれば，砂層の中点にある横断面を毎分通過する水量は $v_0+\frac{1}{2}L/L\cdot v_w$ である。一般に毒物注入口側から測定して任意の距離 X cm の点にある横断面を通過する水の量は $v_0+X/L\cdot v_w$ で表わされる。したがつて任意の距離 X cm における毒物の濃度 C_X は，（I）式で示されるはずである。

$$C_X=\frac{C_0v_0}{v_0+\dfrac{X}{L}\cdot v_w} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(\mathrm{I})$$

したがつてまた，毒物の濃度傾斜 $\Delta C_X/\Delta X$ は（II）式で示される。

$$\frac{\Delta C_X}{\Delta X}=-\frac{1}{L}\cdot\frac{C_0v_0v_w}{\left(v_0+\dfrac{X}{L}v_w\right)^2} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(\mathrm{II})$$

また特に $X=0$，および $X=L$ の時，すなわち毒物の注入口附近および水槽の出口附近の毒物濃度の傾斜はそれぞれ，

$$\frac{\Delta C_X}{\Delta X}=-\frac{1}{L}\cdot C_0\cdot\frac{v_w}{v_0},\qquad \frac{\Delta C_X}{\Delta X}=-\frac{1}{L}\cdot C_0\cdot\frac{v_0}{v_w}\qquad (\text{ただし } v_0\ll v_w \text{ の時})$$

で示される。このように，毒物の濃度傾斜は，水槽の長さが長くなると緩やかになり，注入毒物の濃度が高くなると峻しくなる。毒物注入口附近では，清水の注入速度に比例し，毒物の注入速度に逆比例するが，排

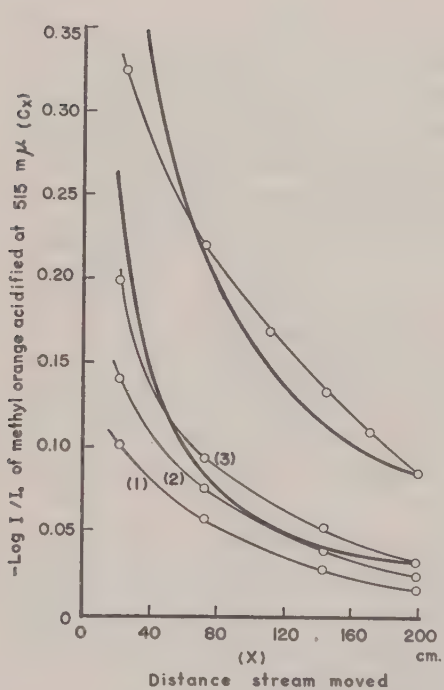


Fig. 2. Gradients of concentrations observed and computed of methyl orange. Bold lines are curves computed from equation (I), thin lines curves observed (1) at 30 min. (2) at 65 min. and (3) at 125 min. after beginning of the supply of methyl orange.

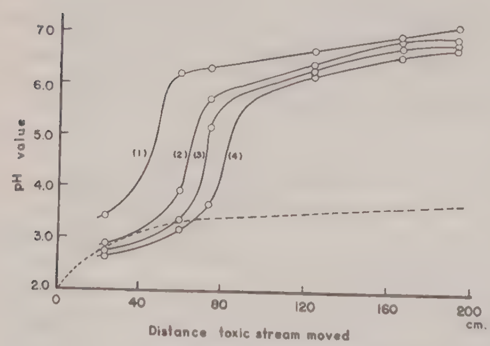


Fig. 3. pH gradient formed by adding HCl to hard water.
Those gradients were established (1) at 30 min. (2) at 65 min. (3) at 95 min. and (4) at 125 min. after supplying HCl

水口附近ではこの関係は逆になる。

実際に水槽に methyl orange を流し，種々の位置から採水し，その酸性色を波長 515 mμ で測定してみた。測定結果は，（I）式から得た理論値とともに，曲線として Fig. 2 に示した。定常状態に達するまで，濃度曲線は，図中に (1), (2), (3) と示したように，次第に理論の曲線に接近したが，完全には重ならなかつた。殊に毒物の注入口附近では一致しなかつた。その理由は，この附近で毒物の濃度傾斜が最も強く，毒物の拡散作用が濃度傾斜の緩漫化に強く働くからである。したがつて実際に理論式が，濃度傾斜を知る上に役立つ流れの範囲は，毒物注入口から約 20 乃至 30% より 100% までの距離の間である。この範囲内で手取り早く濃度傾斜を知るためには，水槽内の二地点の濃度の比を（III）式から求めるのが便利である。

$$\frac{C_X}{C_L} = \frac{v_0 + v_w}{v_0 + \dfrac{X}{L} \cdot v_w} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots \text{(III)}$$

ここに C_L は排水口における毒物濃度である。例えば毒物の注入量 v_0 を毎分 50 ml. 清水の注入量を毎分 3000 ml. とすれば，毒物注入口からの距離 30% と，排水口，すなわち 100% の位置の濃度の比は，$C_{0.3}/C_{1.0} = (50+1.0\times3000)/(50+0.3\times3000) \doteqdot 5/1$ となる。このようにして求めた濃度の比は，実際に求めた値とよく一致する。この範囲の流れでは濃度傾斜が比較的直線に近いことからでも明らかである。

毒物が清水中の溶質と反応する場合には，毒物の濃度および傾斜は（I）～(III) 式によつて求められない。例えば水槽に塩酸を流した場合に pH 値は Fig. 3 に見られるような曲線を画く。これは加えた塩酸が清水中の重炭酸イオンと反応するためであつて，水素イオン濃度が，単に稀釈される時は pH 値は図中の点線で示されるはずである。塩酸を加え始めてから定常状態に至るまでに曲線は (1) から (4) の方向に移動するが，やがこの位置に停まる。流れの距離の変化に対して pH 値が最も大きく変化するところは，pH 4.5 附近である。この pH では，強酸の緩衝能 $\beta = 2.30[H^+]$ も，炭酸および重炭酸の緩衝能 $\beta = 2.30\times(3\times10^{-7}\times C\times[H^+])/(3\times10^{-7}+[H^+])^2$ ともに小さな値であり，両者ともに緩衝作用を示さない。したがつてこのような結果になるのであろう。

結　　語

この水槽内に形成される毒物の濃度傾斜はかなり安定で，魚の動きによつて乱されない。また濃度の傾斜は水槽の設計の如何によつても決るけれども注入毒物の濃度および注入速度，清水の注入速度の加減によつて自由に変えることができる。毒物の濃度傾斜を強めて魚の動きから大約の嫌忌濃度を把握し，傾斜を緩かにして精密に求めることができる。しかしながら紙面の都合で何等これらの点に触れ得なかつたことは残念であるが直ちに第II報以降で述べていきたいと思う。

この報告の終りに臨み，この研究の達成に心からなる援助を惜しまなかつた Purdue 大学衛生工学教授 Don E. Bloodgood 博士に深尽なる謝意を表するものである。

文　　献

1) Shelford, V.E., and Allee, W.C.: Jour. Exp. Zool., **14**, 207 (1913).
2) Doudoroff, Peter: Biol. Bull., **75**, 494～509 (1938).
3) Jones, J.R.E.: Jour. Exp. Biol., **24**, 110 (1947); also Klein, L.: Aspects of River Pollution, London and New York (1957).
4) Chidester, F.E.: Amer. Naturalist, **56**, 373 (1922).
5) 高安三次: 北水試報告 (1924).
6) 大谷武夫他: 本誌, **5**, 281 (1939); 田村　正: 水産増殖学，東京 (1956).
7) Jones, B.F., Warren, C.E., Bond, C.E., and Doudoroff, P.: Sewage and Ind. Wastes, **28**, 1403 (1956).

MULTIPLE HEMOGLOBINS IN FISH—II*.

Kanehisa HASHIMOTO and Fumio MATSUURA**

(*Received Dec. 23, 1959*)

It was shown previously that blood hemoglobin (Hb) of fish was not always homogeneous electrophoretically[1]. BUHLER et al.[2] reported also a similar observation on fish Hb's. As for the Hb of chum salmon, the existence of two components was further demonstrated by other means such as solubility or heat coagulation curve, and some fairly distinct differences in chemical and physical properties were pointed out between these two components[1),3),4)].

The reason why such a heterogeneity exists in fish Hb remains undissolved. Even whether this phenomenon is normal or abnormal (as reported in human) is obscure. According to the results[5] obtained so far, the proportion of amounts of two Hb's in chum salmon was fairly constant, irrespective of place and season of catching, or sex, which seems to indicate that the duplicity of Hb is not abnormal, or not resulting from secondary changes. Probable physiological significances of the existence of multiple Hb's are enough interesting to be studied, while the phenomenon should be investigated from the genetical point of view, too.

In order to find a clue to such questions, blood Hb's of several species of fishes were analyzed electrophoretically and by heat coagulation method, in succession to the previous investigation[1] (Part 1). The same studies were also performed on a few species of *Salmonidae* fishes, which are nearly related taxonomically each other (Part 2).

Materials and Methods

Materials: Blood was collected either by heart-puncture or by cutting tail from one to scores of live bodies of the following species: black bream, *Mylio macrocephalus*, dolphin fish, *Coryphaena hippurus*, *Inimicus sp.*, goby, *Acanthogobius flavimanus*, mullet, *Mugil cephalus*, loach, *Misgurnus anguillicaudatus*, and carp, *Cyprinus carpio*. The bloods were treated as usual and the hemolyzates obtained were analyzed immediately (**Part 1**).

The blood samples of *Salmonidae* fishes such as chum salmon, *Oncorhyncus keta*, red salmon, *O. nerka var. nerka*, pink salmon, *O. gorbuscha*, and king salmon, *O. tschawytscha*, were collected individually by cutting carotid artery of live bodies at the North Pacific Ocean in June, 1959, and kept ice-stored until analyses were undertaken

* This article was read before the Meeting of the Japan. Soc. of Sci. Fish. held on Oct. 26, 1959. The previous article[1] of the same title is the first report of this series.

** Faculty of Agriculture, The Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan. (橋本周久・松浦文雄：東大農学部)

after 17 to 22 days, when blood cells were hemolyzing more or less, and so it was obliged to hemolyze completely directly after plasma layers were pipetted off as far as possible. One sample of chum salmon was, however, treated daringly as usual to check the effect of the above-mentioned convenient method, though the most part of the cells were lost during washing with saline. The blood samples of Hime-masu, *O. nerka var. adonis* (obtained at the Shikotsu Lake; June, 1959), of rainbow trout, *Salmo gairdnerii irideus*, and brook trout, *Salvelinus fontinalis fontinalis* (both at Nagano Pref.; Feb., 1959) were collected by tail-cutting from live bodies and their hemolyzates were prepared after washing blood cells as usual (**Part 2**).

Methods of analysis: Electrophoretic analyses were carried out by a HITACHI D-type electrophoresis apparatus in a veronal buffer of pH 8.6 and $\Gamma/2=0.1$, on about 2% Hb solutions. No precipitates were discerned in Hb solutions during the dialysis against the buffer. Heat coagulation curves of Hb were measured on both met and cyanmet derivative by the method reported previously[6].

The analyses were performed on combined samples from several individuals in Part 1, while on individual samples in Part 2.

Results and Discussion

Part 1. The electrophoretic patterns of the Hb's are shown in Fig. 1. For convenience components will be described as I, II, and so on, in the order of decreasing mobility. Ascending and descending patterns of most Hb's were fairly symmetrical. Only one component was seen in the cases of mullet, goby, and carp, whereas multiple components in the cases of loach, black bream, and *Inimicus sp.* (two components) and dolphin fish (three components). Thus the appearance of multiples Hb's seems to be irrespective of the habitats of the fishes, in accordance with the previous results[1]. In Table 1 are shown the electrophoretic mobility and the proportion of amount of each component. Though the carp Hb's (individual samples) behaved either homogeneous or heterogeneous in the previous experiments[1], the pre-

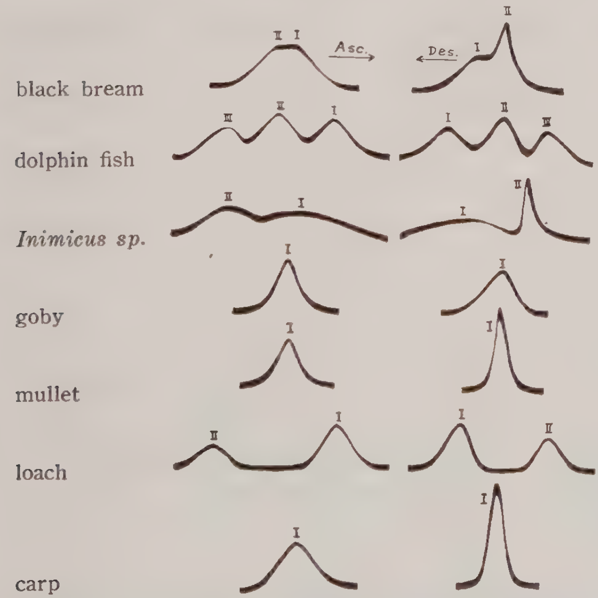


Fig. 1. Electrophoretic patterns of Hb's of fishes in a veronal buffer of pH 8.6 and $\Gamma/2=0.1$. Duration of electrophoresis was 120, 150, 110, 141, 136, 71, and 90 min., respectively.

Table. 1. Electrophoretic analyses of Hb of several kinds of fishes. For each component, values for the first reading represent mobility $\times 10^5$ cm.^{2} volt^{-1} sec.$^{-1}$, and for the second reading (in parenthesis) proportion of amount.
Veronal buffer of pH 8.6 and $\Gamma/2=0.1$ was used, and calculations were mode from measurements of the descending sides only.

Kind of fish	No. of animals	Component*		
		I	II	III
Black bream, *Mylio macrocephalus*	1	1.6 (55%	1.3 45%)	
Dolphin fish, *Coryphaena hippurus*	several	1.2 (33%	0.8 38%	0.3 29%)
Inimicus sp.	1	2.9 (62%	2.1 38%)	
Goby, *Acanthogobius flavimanus*	scores	1.6 (100%)		
Mullet, *Mugil cephalus*	2	1.4 (100%)		
Loach, *Misgurnus anguillicaudatus*	35	2.3 (55%	0.9 45%)	
Carp, *Cyprinus carpio*	4	1.8 (100%)		

* Nomination of each component is nothing else than for convenience.

sent sample (combined sample from four individuals) was homogeneous. The heterogeneous one might be, therefore, rather exceptional.

The heat coagulation curves of the Hb's are shown in Figs. 2 and 3. All the

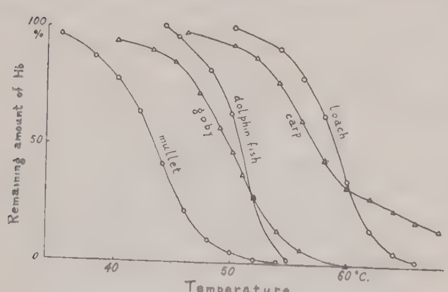


Fig. 2. Heat coagulation curves of met-Hb's of fishes. Refer to the previous report[6] for the method of measuring the curves.

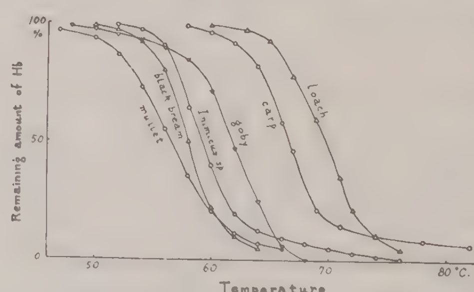


Fig. 3. Heat coagulation curves of cyanmet-Hb's of fishes.

Hb's were shown to be homogeneous by this criterion, though the zone of coagulation temperature is different appreciably species by species. This fact provides a strong contrast between these fishes on one side and *Salmonidae* fishes to be described in Part 2 on the other side.

Part 2. Electrophoretic patterns are shown in Fig. 4. In blood of each species, there were two to four components of Hb. The patterns of both limbs were not so symmetrical as those of the fishes in Part 1, and so the results of calculations are shown in Table 2 for both limbs for comparison. The following points are indicated from these results:

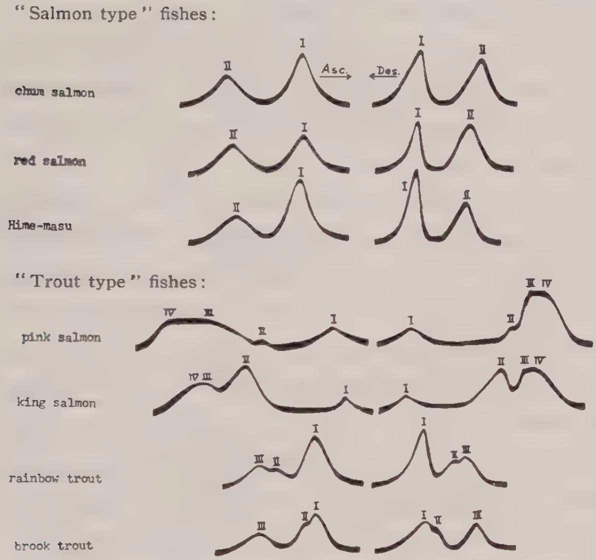


Fig. 4. Electrophoretic patterns of Hb's of *Salmonidae* fishes. Duration of electrophoresis was 90, 90, 90, 60, 60, 60, and 75 min., respectively.

(1) These fishes may be divided into two groups, one group having Hb composed of two components (chum salmon, red salmon, and Hime-masu) and another having Hb composed of three or four components (pink salmon, king sal-

Table 2. Electrophoretic analyses of Hb of some species of *Salmonidae* fishes. Refer to Table 1 as to what the numbers mean, and the buffer solution used. Mean values of individual determinations are given.

Limb / Component* / Name of species**	Ascending				Descending				Amount of heat-stable component*** (%)
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	
Chum salmon, *Oncorhynchus keta* (3)	2.7 (58%	1.5 42%)			2.6 (46%	1.7 54%)			41.7
Red salmon, *O. nerka var. nerka* (2)	2.8 (56%	1.7 44%)			2.7 (39%	1.9 61%)			47.3
Hime-masu, *O. nerka var. adonis* (14)	2.8 (71%	1.6 29%)			2.8 (58%	1.9 42%)			28.5
Pink salmon, *O. gorbuscha* (3)	5.5 (15%	4.2 4%	2.9 38%	2.0 43%)	5.3 (13%	3.8 6%	3.1 23%	2.1 58%	47.5
King salmon, *O. tschawytscha* (1)	5.2 (7%	2.6 53%		1.4 40%)	4.9 (8%	2.5 35%		1.8 57%)	37.9
Rainbow trout, *Salmo gairdnerii irideus* (3)	2.8 (61%	1.9 16%	1.4 23%)		2.8 (56%	2.0 19%	1.7 25%)		37.5
Brook trout, *Salvelinus fontinalis fontinalis* (1)	2.5 (64%	2.0 12%	1.3 24%)		2.4 (41%	2.2 18%	1.5 41%)		32.3

* See foot-note in Table 1.
** Value in parenthesis represents number of individual determinations.
*** Refer to the previous report[1]) for the method of estimation.

mon, rainbow trout, and brook trout). For convenience, the former group will be called hereafter as "salmon-type", and the latter as "trout-type".

(2) Though the separation of Hb components of "salmon-type" fishes is comparatively good, the proportion of amounts of two components was different species by species. Two components exist in almost equal amounts in chum or red salmon, while this is not the case in Hime-masu.

(3) Among "trout-type" fishes, pink salmon and king salmon possess four components, whereas rainbow trout and brook trout three components. The degree of separation and the ratio of amounts of components differ species by species. For instance, component II is only a very minor one in pink salmon, but a major one in king salmon. The mobility of component II was closer to that of component III than to component I in rainbow trout, whereas the relation was reverse in brook trout. These four "trout-type" fishes have, however, a thing in common; only one component is separated clearly from the rest.

(4) The electrophoretic mobilities of main components are fairly common over both types, one being $2.5\sim3.0\times10^{-5}$, and another about 1.5×10^{-5} cm^2 $volt^{-1}$ sec^{-1}

The heat coagulation curves of these Hb's are shown in Figs. 5 and 6, from

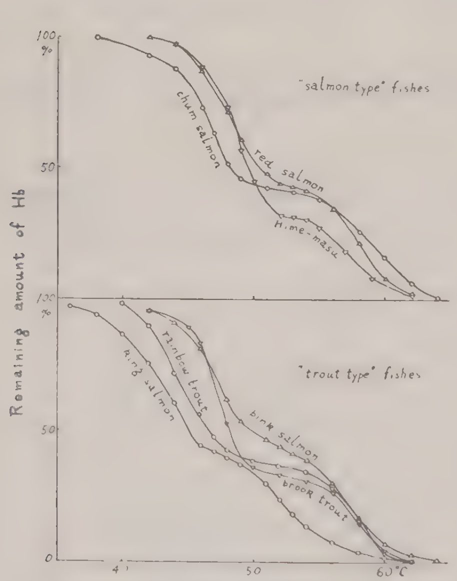


Fig. 5. Heat coagulation curves of met-Hb's of *Salmonidae* fishes.

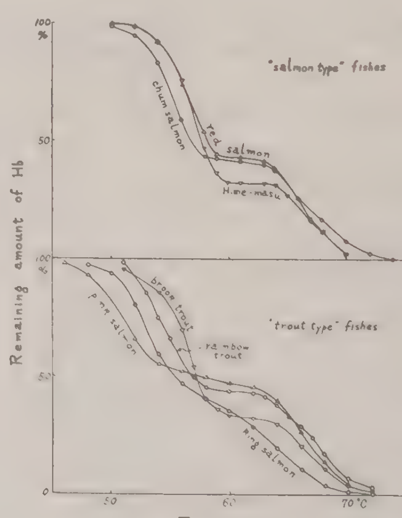


Fig. 6. Heat coagulation curves of cyanmet-Hb's of *Salmonidae* fishes.

which the following points are noticed:

(1) All of the Hb's of "salmon type" fishes were shown to be composed of two components in accordance with the electrophoretical results, differing from the cases in Part 1. In "trout type" fishes, however, the existence of electrophoretically ob-

served three or four components could not be confirmed by this method, but only two components existed apparently. The half-way shelves of the curves are clearer generally on cyanmet derivative of Hb than on met one.

(2) The Hb of red salmon begins to coagulate at a slightly higher temperature than that of chum salmon does. No difference could be discerned in this respect between red salmon and Hime-masu, although the proportion of amount of corresponding component was not same. The fact seems to support the present theory that Hime-masu is a land-locked form of red salmon, together with the electrophoretic similarity between them.

(3) It was confirmed already that component I and II correspond to the heat-labile one ("component F", as designated by the present authors) and the heat-stable one ("component S"), respectively, in the cases of chum[3] and red[7] salmon. In fact, the proportion of amount of component II on ascending limb is comparable well to the proportion of the heat-stable component in both salmons and moreover in Hime-masu (see Table 2). Such a tendency that the electrophoretically fast component corresponds to the heat-labile one, perhaps holds also in the case of rainbow trout at least among "trout-type" fishes, as shown by the qualitative data on its Hb[7].

The blood samples were analysed after storing for about three weeks in ice because of technical reasons, and so there was a possibility that some changes of the Hb's might take place during the storage. A storage experiment was carried out, therefore, on fresh blood samples of chum salmon. According to the results, no detectable changes were found to occur during ice-storage of 3 weeks. There was another possibility that plasma proteins might affect on the electrophoretic patterns because the most hemolyzates used were prepared from unwashed red cells. This possibility should be also excluded since no substantial differences were observed between the pattern of hemolyzate prepared without washing blood cells and that of hemolyzate prepared from usually washed cells.

According to the results in the present and previous reports, the electrophoretic properties of fish Hb are specific for each species, but there are some similarities among related species as observed in *Salmonidae* fishes. It was suggested by Dessauer et al.[6] that reptiles and amphibians may be classified to a certain degree on the ground of the characteristics of electrophoretic properties of their Hb's, and it may be possible also for fishes. As seen in the case of Hime-masu, the properties of heat coagulation of Hb may be utilized supplementarily for such a purpose.

Summary

(1) Properties of electrophoresis and heat coagulation were investigated on Hb of the fishes (including several species of *Salmonidae*) in sea-, fresh-, and brackish-

water.

(2) The fishes except *Salmonidae* were shown to have one to three components of Hb by electrophoresis, but all proved to have an apparently homogeneous Hb by heat coagulation method.

(3) The Hb of *Salmonidae* fishes was shown electrophoretically to be composed of two to four components, but wholly two by heat coagulation. There are common features in both properties all over *Salmonidae* fishes.

(4) Both properties of fish Hb was more or less species-specific as far as studied, and these may be useful for classifying fishes in general.

The authors wish to express their heartfelt thanks to Messrs. S. Yoshino and T. Kanemitsu for supplying the blood materials, and to Messrs. Y. Yamaguchi and H. Eguchi for their technical assistance.

The expenses of this investigation were defrayed partly by a research fund granted from the Ministry of Education.

References

1) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **24**, 719 (1959).
2) Buhler, D. R., and Shanks, W. E.: *Sci.* **129**, 899 (1959).
3) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **24**, 724 (1959).
4) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **25**, 465 (1959).
5) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* (to be published).
6) Matsuura, F., and Hashimoto, K.: *This journal* **24**, 731 (1959).
7) Hashimoto, K., and Matsuura, E.: unpublished data.
8) Dessauer. H. C., Fox, W., and Ramirez, J. R.: *Arch. Biochem Biophys.* **71**, 11 1957 .

クロルテトラサイクリン(CTC)処理底引漁獲物の鮮度およびCTC残存量に対する魚の種類, 大きさ, 処理方法等の影響

篠山茂行・浜田七郎・山田紀作・米 康夫・富山哲夫

(1959 年 12 月 26 日受理)

CHANGE IN FRESHNESS AND CTC RESIDUE OF CHLORTETRACYCLINE-TREATED TRAWLER'S CATCHES WITH SPECIES, SIZE AND METHOD OF TREATMENT

Shigeyuki SASAYAMA*, Shichiro HAMADA* and Kisaku YAMADA*
Yasuo YONE** and Tetsuo TOMIYAMA**

In case of cutlass fish which is flat and long shaped, keeping quality by a direct CTC–icing was superior to that resulted from placing parchment paper on fish which is now in common use by most fishermen. It is to be noticed that the preservative effect of CTC–ice could be only noted in upper part of the container, but not in lower part. The increase in CTC concentration of dip solution resulted in better quality but the effect was not so marked probably due to a rapid rate of spoilage in cutlass fish having flat shape and soft flesh. The sprinkling of CTC solution yielded a better quality in upper part of the container whereas no effect in the lower part. A twice sprinkling gave little better results. The similar results were also obtained in case of croaker. As to the effect on keeping quality of the position of the container in fish hold and of fish position in the container, it was found that cutlass fish held in lower part of the fish hold and of the container gave inferior quality and that not appreciable difference in quality was noted between fish container held in upper and middle part of the fish hold.

The CTC residue in unskinned flesh of cutlass fish was smaller than 0.08 ppm in the direct CTC–icing and 0.05 ppm in the indirect icing. Once sprinkling of sea water solution of CTC up to 150 ppm resulted in the residue smaller than 0.1 ppm. The once sprinkled fish lot showed a marked difference in CTC residue between upper and lower part of the container, while a twice sprinkled lot contained rather uniform CTC residue between upper, middle and lower part. The dip treatment yielded CTC residue of 0.75 ppm at 100 ppm CTC level and of 0.2 ppm at 25 ppm level. In case of croaker, once sprinkling of 100 ppm CTC solution yielded residue smaller than 0.1 ppm in flesh where as dip treatment in 25 and 50 ppm CTC solution resulted in 0.09 ppm and 0.2 ppm CTC, respectively. The decrease in CTC residue of croaker with depth of flesh was comparable with that observed in salmon[13], mackerel[11] and others[3),12].

底引漁獲物を漁獲直後に CTC 液あるいは CTC 氷で処理すると，保鮮に有効なことは多くの報告[1-5]により明らかである。しかし底引漁獲物の種類はきわめて多く，その形，大きさも多種多様である。このような漁獲物を CTC で有効に処理するには，船上の作業，魚種，魚体の大きさ等に適応した処理方法が研究さるべきである。また食品衛生の立場からは保鮮効果とともに組織への CTC の滲透について検討せねばなら

* 西海区水産研究所 (Seikai Reg. Fish. Res. Lab., Nagasaki Japan).
** 九州大学水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

ない。しかしこのような研究は米等[3]がイボダイおよびワニエソについて研究した以外にはない。因つて本研究では再び著者の一人（浜田）がトロール漁船に乗船し，体形が扁平で細長いタチウオと，両側が多少平たい紡錘形のクログチおよびイシモチに，実際の漁獲操業条件の下に種々の CTC 処理方法を実施し，帰港後各処理法の保鮮効果，並びに組織への CTC の滲透量について研究したのでここに報告する。

研究材料および方法

1. 研究材料: 1959 年 7 月 2 日より 7 月 8 日までの間伏見丸（日本水産戸畑支社所属）が東支那海において，底引網で漁獲したタチウオ（*Trichiurus lepturus*, 体長 24～30 cm），イシモチ（*Argyrosomus argentatus*, 体長 26～30 cm）およびクログチ（*Argyrosomus nide*, 体長 20～26 cm）を供試した。

漁獲物の処理に使用した CTC は医薬用 CTC 塩酸塩結晶である。CTC 氷は日本レダリーの指示方法[6]により製造した 3.8 ppm CTC 含有氷であり，浸漬および散布処理にはアクロナイズ FD (CTC 10% ＋ クエン酸 10% ＋ 食塩 80%) の海水溶液を使用した。

2. CTC 処理方法: 漁獲直後，伏見丸船上で充分水洗いしたものをつぎのように処理した。浸漬区では 25, 50 および 100 ppm の CTC を含む海水液の 20 *l* に，籠に入れた約 20～25 kg（1 箱分）の供試魚を 30 秒間浸漬し，常法のように箱建てした。浸漬散布区では 25 ppm の CTC 海水液に 30 秒間浸漬後，箱建てし，さらに 100 ppm の CTC 海水液を 1 箱当り 500 cc の割合で散布した。散布区では箱建て後，50, 100, 150 および 200 ppm の CTC 海水液を，1 箱当り 500 cc ずつジョロで散布した。ただしタチウオは一箱中に数段ぎつしりとつめるので，散布 1 回区以外に魚箱の半分までつめた時 250 cc の CTC 海水液を散布し，さらに全部をつめ終つた時に 250 cc を散布する散布 2 回区を設けた。またクログチも魚箱の約半分までバラ詰めにし，その上に縦に一列にならべておくので，半分までバラ詰めにした時と，全部詰め終つた時の 2 回 250 cc ずつ散布する散布 2 回区を設けた。なおタチウオは 2 回の試験とも一網の魚で全試験区を設けたが，シログチおよびクログチでは一網の漁獲が少なかつたので，二網乃至三網分の魚で試験区を設けた。

各試験区の魚を詰めた魚箱はパーチメント紙で覆い，魚艙内で白氷中に貯蔵した。ただしタチウオの CTC 氷区のみはパーチメント紙を用いずに CTC 氷中に貯蔵したものと，パーチメント紙で覆い，CTC 氷中に貯蔵したものとを設けた。試験区の各魚箱を魚艙に収納する場合には，1 試験のものはすべて同段におき，施氷後防水キャンバスで覆い，他の試験のものと遮断した。この場合いずれの試験でも魚艙壁に接した所には試験区を置かないように，また 11 段に重ねた魚箱の底部と最上部を避けて，下から 3 段目と 7 段目の間に全試験区を収容するように注意した。

以上の外に魚艙内における保蔵場所によって鮮度低下にどの程度の差があるかを知るために，7 月 5 日に漁獲したタチウオを水洗いし，箱建て後に，パーチメント紙で覆い，一部を下から 2 段目（下段），一部を 5 段目（中段），残りを 9 段目（上段）において白氷で氷蔵した。

3. CTC および鮮度の測定: 漁獲物は 7 月 17 日に長崎魚市場に水揚げし，直ちに大洋漁業 K.K. 長崎支社の冷蔵庫（0～2°C）に貯蔵した。分析は 7 月 18 日より 21 日までの間に行つた。

白氷区，CTC 氷パーチメント使用区，浸漬散布区，浸漬区およびイシモチの散布区はいずれも魚箱に詰めた魚の半分（魚箱の魚を縦断して分けた右あるいは左半分のこと，以下同じ，タチウオ約 70 尾，イシモチ約 35 尾，クログチ約 70 尾）を試料とした。魚箱の部位により CTC の滲透量および鮮度に差があるか否かを知るために，タチウオの散布 1 回区は魚箱の最上部の 1 列（約 10～15 尾）と 2 列目以下の魚の半分（約 40～45 尾）を，散布 2 回区は魚箱の最上部の 1 列，2 列目より魚箱の中位までの間の魚の半分（約 15 尾）および中位以下の魚の半分（約 25 尾）を試料とした。クログチの場合は魚箱の最上部にある魚の半分（約 35～40 尾）とその下にバラ詰めにしてある魚の半分（約 35～40 尾）を試料とした。

これらの供試魚は軽く水洗いし，内臓を除去し，三枚におろした後に腹部を除いた。イシモチおよびクログチは皮と肉とに分けて，皮は包丁で，肉はミックサーで細砕し，それぞれ定量に供した。タチウオは皮と

肉とに分けることが困難であつたので，皮付きのまま定量に供した。

CTC の定量には富山・小林・米の簡易 cylinder plate 法[7] を用いた。CTC の滲透模様を知るためには CTC 液に浸漬した 10 尾のイシモチの Fig. 1 に示した側面の凍結組織をカンナで薄層に切り，各切片について定量した。この場合には試料が 8〜18 g であつたので，ミクロブレンダーを用いて混和抽出した。

揮発性塩基窒素 (VBN) の定量は富山・井出・秋山の水蒸気蒸溜法[8] により行つた。すなわち 10 g の肉糊に 30 cc の 5% 三塩化酢酸を混和して除蛋白し，その沪液を定量に供した。揮発性還元物質 (VRS) は富山・大山・池浦の方法[9] により行つた。官能検査は REAY-SHEWAN[10] の基準にしたがつて判定した。

研 究 結 果

1. 魚種，大きさ，CTC 処理方法による鮮度効果の差

漁獲直後のタチウオ，イシモチおよびクログチを種々の方法により船上で処理し，魚艙内に氷蔵してきたものの官能検査値，VBN および VRS は Tables 1 および 2 に示す通りである。これらの表から明らかなことは，タチウオにおいては CTC 処理区はすべて白氷で保蔵した対照区に比較して効果が認められる。特に浸漬区の効果は著るしく，CTC 濃度が高くなるにしたがつてその効果が増大した。しかし散布区では CTC 濃度および散布方法の違いによる効果の差はほとんど認められなかつた。ただし散布区では箱の上層

Table 1. Organoleptic phases, volatile reduced substances (VRS) and volatile bases nitrogen (VBN) of cutlass fish* in various experimental groups.

Treatments		Position in fish box	Organoleptic phases**	VRS# μeq./g.	VBN† mg%	Organoleptic phases	VRS μeq./g.	VBN mg%	Position in fish box
Plain ice			Ⅲ	330	64.4				
CTC ice	parchment paper§		Ⅲ	438	71.4				
	none	upper	Ⅱb–Ⅲ	200	54.2	Twice spray‡			
		lower		258	65.8				
Spray§§	50††	upper		170	42.8	Ⅱa–Ⅱb	200	49.1	upper
		center	Ⅱa–Ⅱb	290	62.3		260	60.2	center
		bottom					396	58.4	bottom
	100	upper		250	60.9	Ⅱb–Ⅲ	240	57.2	upper
		center	Ⅱb–Ⅲ	430	80.7		360	62.7	center
		bottom					382	65.0	bottom
	150	upper		136	31.2	Ⅱa	170	39.3	upper
		center	Ⅱa	280	56.8		230	49.4	center
		bottom					310	56.1	bottom
	200	upper		182	52.9	Ⅱa	130	36.0	upper
		center	Ⅱa	370	64.2		240	51.3	center
		bottom					320	56.7	bottom
Dip (25) and spray (100)			Ⅰb	274	55.7				
Dip	25		Ⅰb	246	48.3				
	50		Ⅰb	176	46.1				
	100		Ⅰb	140	46.1				

* *Trichiurus lepturus*, Date of captured: Ⅶ/2, '59. ** The organoleptic phases herein presented are principally those for haddock according to REAY–SHEWAN[10]. Ⅰb; Eyes not sunken, lost brilliancy. Gills red, stale odor. Surface brilliant. Flesh noticeably soft. Odor neutral. Ⅱa; Eyes slightly sunken, opalescent. Gills red, putrid odor. Surface slightly slimy. Flesh softer. Odor "strengthening" but not stale. Ⅱb; General appearence stale. Eyes sunken. Gills red, putrid odor. Surface slimy. Flesh soft. Odor stale. Ⅲ; Eyes opalescent, sunken. Gills pale red, putrid odor. Surface very slimy. Flesh very soft. Odor bad odor. # measured by TOMIYAMA et al's method. † measured by TOMIYAMA et al's method. § Fish were covered with parchment paper, and then stored under CTC ice (3, 7 ppm). †† CTC level in CTC–sea water used (ppm). §§ Sprinkling of a 25–Kg lot of fish with a 500 cc of the CTC–sea water was carried once after filling fish box. ‡ The first sprinkling with a 250 cc of CTC–sea water after half filling the box and then the second sprinklig after filling the box.

Table 2. Organoleptic phases, volatile reduced substances (VRS) and volatile bases nitrogen (VBN) of croaker in various experimental groups.

Treatments	Position in fish box	White croaker* Organoleptic phases	White croaker* VRS μeq./g.	White croaker* VBN mg%	Black croaker** Organoleptic phases	Black croaker** VRS μeq./g.	Black croaker** VBN mg%	Black croaker** Organoleptic phases	Black croaker** VRS μeq./g.	Black croaker** VBN mg%
Plain ice		Ⅲ	194	38.4	Ⅲ	150	32.9			
CTC ice	upper	Ⅱb–Ⅲ	150	36.3	Ⅱb–Ⅲ	120	31.7			
	lower					160	37.9			
Spray 50§	upper / lower	Ⅱa–Ⅱb	174	39.7						
Spray 100	upper	Ⅱa	170	36.0	Ⅱa	130	30.8	Ⅰb	160	33.9
	lower					200	35.0		182	38.5
Spray 200	upper	Ⅰb	160	40.2	Ⅱa	110	29.3	Ⅰb	130	33.2
	lower					124	30.8		142	34.1
Dip (25) and spray (100)		Ⅰb	180	39.5						
Dip 25		Ⅱa	160	33.3						
Dip 50		Ⅰb	148	32.0						

* *Argyrosomus argentatus.* ** *Argyrosomus nibe* § CTC level in CTC–sea water solution.

部の魚と下層部の魚とでは鮮度に大きな差が見られた。浸漬散布区の鮮度は浸漬区のそれと比較して差なく併用効果は認められなかつた。CTC 氷区ではパーチメント紙を使用したものの鮮度は，対照区のそれと差が認められなかつたが，パーチメント紙を使用せず CTC 氷で直接氷蔵したものには効果が認められた。しかし散布区と同様に箱の上下による鮮度差が目立つていた。イシモチおよびクログチは漁獲から 2 週間以内であつたから，Table 2 に示している通り CTC 処理区と対照区との間の鮮度差は僅少であつた。

2. 魚艙内の保蔵場所による鮮度差

漁獲物を満船した場合，魚箱を 11 段重ねられる大きさの魚艙のなかに，下から 9 段目（上段），5 段目（中段）および 2 段目（下段）にそれぞれ同一網で獲れたタチウオを白氷で保蔵した。これらの帰港後の鮮度は Table 3 から明らかなように，上段の魚と中段の魚の鮮度差は少いが，下段の魚は中段のものと比べると著るしい鮮度落ちが認められた。

Table 3. Change in VBN and VRS of cutlass fish flesh with position of fish container in fish hold.

Position of fish container	VBN mg%	VRS μeq./g.
upper (9th*)	49.5	230
center (5th*)	53.8	200
bottom (2nd*)	63.6	330

* pile of the box counted from the base.

3. タチウオ，イシモチおよびクログチの肉および皮における CTC 残存量

タチウオの皮付肉中の CTC 残存量は Table 4 に示す通りで，浸漬液あるいは散布液中の CTC 濃度が高くなるにしたがつてタチウオの皮付肉中の CTC 量は増加した。しかし散布の場合の CTC 残存量の増加率は浸漬の場合程大きくなかつた。100 ppm の CTC 浸漬液に 30 秒浸漬した場合の皮付肉中の CTC 量が 0.75 ppm であつたのに対し，同濃度の液を 1 回散布した場合の CTC 量は 0.10 ppm であり，200 ppm の液の場合でさえ 0.17 ppm で，散布の場合の組織への CTC の滲透は浸漬の場合に比べて少なかつた。CTC 氷蔵の場合はパーチメント紙を使用したものの CTC 量は，パーチメント紙を使用しなかつたものの約 2/3 であつた。

イシモチおよびクログチの皮および肉中の CTC 残存量は Table 4 に示す通りで，いずれの魚でも散布の場合の CTC の滲透は浸漬の場合に比べて少なかつたが，浸漬あるいは散布いずれの場合も皮および肉中の CTC 量は使用した液の CTC 濃度に比例した。CTC 液を散布したクログチの皮および肉の CTC 量は，同じ CTC 処理をしたイシモチのそれの約 2 倍であつた。クログチの場合，散布 1 回区と散布 2 回区の間には皮および肉中の CTC 残存量に差が認められなかつた。

Table 4. CTC residue (mcg./g.) in tissue of cutlass fish and croaker.

Treatments \ Fish species / Tissue		Cutlass fish unskinned flesh		White croaker flesh	White croaker skin	Black croaker flesh		Black croaker skin	
			Twice** spray				Twice** spray		Twice** spray
Plain ice		neg.§		neg.	0.03	neg.		0.04	
CTC ice	parchment	0.05							
	none	0.08		0.01	0.06	0.02		0.11	
Spray*	50†	0.07	0.10	0.02	0.07				
	100	0.09	0.19	0.04	0.13	0.08	0.10	0.24	0.32
	150	0.10	0.24						
	200	0.17	0.27	0.07	0.23	0.14	0.13	0.41	0.41
Dip and Spray		0.45		0.15	0.69				
Dip	25	0.21		0.09	0.36				
	50	0.33		0.19	0.56				
	100	0.75							

Plain ice was used in all the experimental groups except the CTC-ice group.
Date of capture: cutlass fish, VII/2; white croaker, VII/6; black croaker, VII/7.
* and ** see Table 1. † CTC level in CTC-sea water solution. § neg. means smaller than 0.01 mcg. per g. tissue.

Table 5. Change in CTC content of sprayed fish with position in fish container.

mcg. per cc of CTC-sea water used for spraying	Position in fish box \ Fish species	Cutlass fish, unskinned flesh: once spray	Cutlass fish, unskinned flesh: twice spray	Black croaker flesh: once spray	Black croaker flesh: twice spray	Black croaker skin: once spray	Black croaker skin: twice spray
50	upper	0.09	0.09				
	center	0.06	0.13				
	bottom		0.08				
100	upper	0.14	0.18	0.09	0.10	0.30	0.30
	center	0.08	0.17	0.07	0.10	0.20	0.33
	bottom		0.21				
150	upper	0.27	0.15				
	center	0.08	0.22				
	bottom		0.24				
200	upper	0.23	0.25	0.17	0.16	0.53	0.45
	center	0.16	0.28	0.11	0.11	0.32	0.36
	bottom		0.26				
CTC ice	upper	0.15		0.04			
	lower	0.05		neg.			

魚箱の部位による CTC 滲透の差についてみると，Table 5 の結果から明らかなように，タチウオの散布1回の場合，箱の上層部と下層部にある魚体への CTC の滲透量には顕著な差があつたが，クログチの場合は僅かな差しか認められなかつた。しかし散布2回の場合はいずれの魚でも魚箱内の位置による CTC 滲透量の差はきわめて僅かであつた。CTC 氷蔵の場合はいずれの魚でも散布1回の場合と同じ傾向を示した。

イシモチの組織中への CTC の滲透模様は Fig. 1 に示した通りである。すなわち 25 ppm に浸漬したイシモチは，皮下 9 mm より深部へは全く滲透していなかつたが，50 ppm に浸漬したものは滲透量も多く範囲も深かつた。しかしいずれの場合も滲透した CTC の大部分は表面から 5 mm までであることは従来，サバ[11]，マグロ[12]，イボダイ[3]，ワニエソ[3]，ベニザケ[13] 等で著者等が得た結果と近似している。

4. 処理液の CTC 濃度と組織中の CTC 残存量との関係，並びに CTC 残存量と VBN, VRS との関係

浸漬液の CTC 濃度と，タチウオの皮付肉およびイシモチの肉における CTC 残存量との関係は Fig. 2 に示すように，明らかに直線関係が認められる。また散布液の CTC 濃度と，タチウオの皮付肉およびイシ

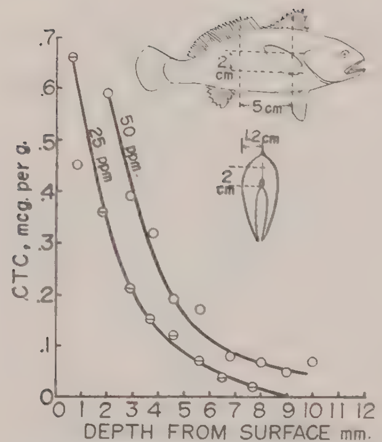


Fig. 1. Distribution of CTC in muscle of dipped white croaker.

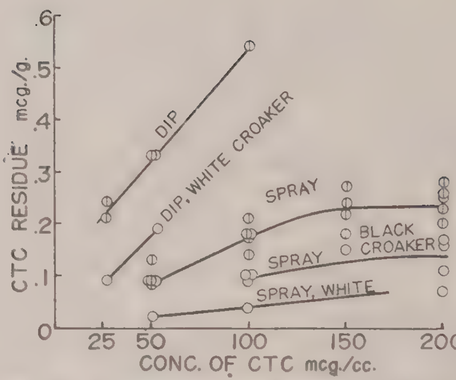


Fig. 2. Relationship between CTC residue in flesh of bottom fish and CTC concentration employed for dip or spray. Ⓣ cutlass fish; ○ croaker.

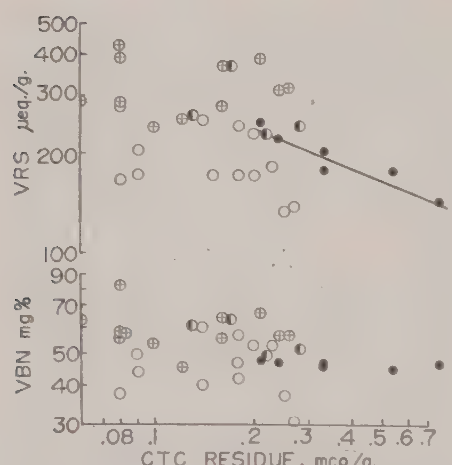


Fig. 3. Relationship between CTC residue in flesh and volatile bases nitrogen and volatile reduced substances content of muscle of dipped and sprayed cutlass fish.

● dipped fish; ⊕ sprayed fish, held in upper; ◐ held in center; ○ held in bottom.

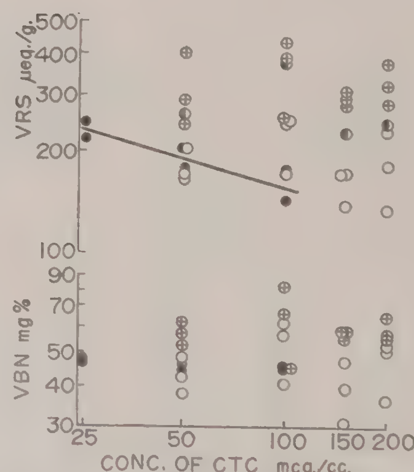


Fig. 4. Relationship between CTC concentration of CTC-sea water employed and volatile bases nitrogen and volatile reduced substances content of muscle of dipped and sprayed cutlass fish.

○, ◐, ⊕, ●; see Fig. 3.

[illegible] CTC 濃度 120 ppm [illegible] CTC [illegible] VRS [illegible] Fig. 3, [illegible] CTC [illegible] VRS [illegible]間にも直線関係が成立する (Fig. 4)。

考　　　察

[illegible]を用いて, [illegible] CTC [illegible]

果はタチウオの場合は浸漬法が最も優れているが，30 秒の短時間浸漬によつては，25 ppm の液では CTC 氷蔵法の効果程度に過ぎず，少くとも 50 ppm 以上の CTC 液を使用すべきことが判つた。なお浸漬の場合には，前報[3]のイボダイの場合と同様に，浸漬液の CTC 濃度の対数と VRS の対数との間に直線関係が認められたことは興味が多い。これに対し散布法はかなり高濃度の場合にも効果が劣つた。タチウオおよびイシモチの場合，散布法の効果は浸漬法のそれより劣ること，タチウオおよびクログチの散布1回のものの鮮度と散布2回のそれとの間に差が認められなかつたこと，並びに散布液の CTC 濃度の差による保鮮効果の差が少なかつたことは，腐敗菌の侵入場所として重要な鰓が CTC 液に触れなかつたためであろう。またタチウオの散布処理の場合，皮付肉の CTC 残存量と鮮度との間には一定の関係がないことも，以上のような原因によるのであろう。

Table 5 に示した魚箱中の試料の位置による組織中の CTC 量の差をみると，タチウオの場合，散布1回では魚箱の上層部の CTC 残存量は下層部のそれよりも多量であつたのに反し，クログチの場合は散布1回では上層部と下層部の CTC 量はほとんど同じであつた。またタチウオの散布1回の場合は使用した液の CTC 濃度が高くなつても，各魚箱の下層部にある魚の鮮度には差が少なかつた。しかしクログチの場合は 200 ppm の液を散布した魚箱の下層部の鮮度は，100 ppm のそれより優れていた。この違いは魚の形および箱詰め法に原因するものと思われる。すなわちタチウオは扁平な魚であるため箱詰めした場合に魚体が密着し，間隙がほとんどなく，散布1回の場合，散布した CTC 液は表層部のみに触れ，下層部には達しない。しかしクログチは小型で紡錘型であり，魚箱の約半分までバラ詰めにし，その上に一列に並べているので，魚体間に相当の間隙があり，散布した CTC 液は下層部の魚まで洗い，CTC が滲透することになる。またクログチと同じ方法で箱詰めにした前報[3]のイボダイの魚箱の上層部および下層部における鮮度および組織中の CTC 残存量はクログチの場合と全く同じ結果を示した。これらの結果は散布の場合，魚の形，箱詰め法に応じてそれぞれに適した方法で魚を処理せねばならぬことを示唆している。例えばタチウオのような魚では，散布回数を多くして一尾一尾に充分に CTC 液がつくようにしたならば効果があがるだろう。

一般に魚艙内の下段に保蔵した魚の鮮度が悪いのは，下層部の魚は上方の氷および魚の重量で圧され，また上層部の魚の体液で汚染され，腐敗細菌の繁殖が促進され鮮度が低下するものと考えられる。同様な理由で魚箱内でも下層程鮮度が悪いのであろう。また散布2回処理したタチウオの CTC 量は上層と下層とに比較的均一であつたのに，下層部の鮮度が悪かつたことも，前記のような原因であろう。

本研究においてタチウオの鮮度判定には，VBN よりも VRS の方が適当であつたことは注目に価する。最近，河端氏[14]は CTC 処理後に繁殖する細菌には VBN や TMN を生成する能力の低いものが多いことを報告しているので，今後 CTC 処理魚体の鮮度判定法として VRS の価値を検討する必要があろう。

総　　括

日本水産所属伏見丸船上においてタチウオおよびグチ類を種々の方法で CTC 処理した場合の保鮮効果および陸揚げ後における処理魚の CTC 残存量について研究し，つぎのような結果をえた。

1. タチウオの場合，CTC 氷 (3.8 ppm) で魚艙に 13〜17 日氷蔵した後の鮮度は，CTC 氷を直接魚体の上にかけたものでは白氷区より優れていたが，パーチメント紙を使用したものは保鮮効果がなかつた。

2. いずれの魚種でも浸漬では液の CTC 濃度の増加とともに保鮮効果は良好となつた。

3. タチウオの散布の場合，1回散布および2回散布のいずれも保鮮効果が認められたが，CTC 濃度が増加してもその効果は僅かであつた。

4. タチウオの場合には，CTC 氷蔵，散布のいずれにおいても魚箱内の魚の位置による鮮度および CTC 残存量の差が大きかつた。散布1回の場合，魚箱の上層部の魚の鮮度は優秀であつたが，下層部の魚の組織中の CTC 残存量は上層部のそれの約 2/3 で，鮮度は対照の白氷区のそれと全く差がなかつた。しかしクログチの場合は魚箱内の位置による CTC 残存量の差および鮮度差は小さかつた。したがつて魚箱内に空隙なく詰るような魚種では浸漬すべきである。

5. タチウオの皮付肉における CTC 残存量は CTC 氷蔵の場合 0.08 ppm, 散布1回の場合は 150 ppm 以下の CTC 液では 0.1 ppm 附近あるいはそれ以下であつたが, 200 ppm CTC 液を1回散布した場合, および2回散布した場合はそれぞれ 0.17 および 0.27 ppm であつた。浸漬の場合は 25 ppm の液で 0.21 ppm, 100 ppm の液では 0.75 ppm であつた。

6. イシモチおよびクログチの肉の場合には濃度 50 ppm に浸漬した場合を除くと, いずれの処理方法によつても 0.1 ppm 附近あるいはそれ以下であつた。

7. イシモチの組織への CTC の滲透の大部分は皮下 5mm までであり, 濃度は内部に向つて急傾斜に減少していた。

本研究は日本レダリー K.K. の支援の下に実施され, 日本水産 K.K. 戸畑支社および伏見丸乗組員各位の協力をえた。研究の遂行には北原慶子, 藤野清也, 池浦一也, 衣斐剛氏等の助力を仰いだ。ここに深謝の意を表する。

引 用 文 献

1) 富山哲夫・米康夫・黒木俊一・野村稔・原昭太郎・七字徹・前田敏弘・小田一郎・松尾俊朗: 本誌, **22**, 128 (1956).
2) 篠山茂行・浜田七郎・山田紀作: 西海区水産研究所研究報告, 17 号, (1959).
3) 米 康夫・富山哲夫・浜田七郎: 本誌, **25**, 156 (1959).
4) 宇野 勉・徳永良夫・中村全良: 北海道水産研究所研究報告, 15 号, 29 頁 (1957).
5) 宇野 勉・大島 浩・笹島正秋・徳永俊夫・相沢 悟・中村全良: 北海道水産研究所研究報告, 19 号 (1958).
6) 日本レダリー K. K.: アクロナイズ・ニュース, No. 2 (1957).
7) 富山哲夫・小林邦男・米 康夫: 本誌, **24**, 937 (1959).
8) 富山哲夫・井出克己・秋山 勉: 本誌, **17**, 191 (1952).
9) 富山哲夫・池浦一也・大山重信: 本誌, **26**, 33 (1960).
10) Reay, G. A. and Shewan, J. M.: The spoilage of fish and its preservation by chilling advances in food research, Vol. 2, p. 343 (1949), Academic Press Inc., New York, N. Y.
11) 富山哲夫・米 康夫: 本誌, **25**, 290 (1959).
12) 富山哲夫・米 康夫: 未発表.
13) 富山哲夫・米 康夫・小林邦男: 本誌, **24**, 1012 (1959).
14) 河端俊治・阪口玄二・阪口澄子・中村丸光子・赤野多恵子・城水君子・興津知明: 1959 年 10 月堺市で開かれた日本水産学会大会において発表した。

大 会 記 事

日 程 表

月 日	時 間	場 所	行 事
10月25日(日)	09.00 ~ 12.00	第Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ会場	研究発表
	12.00 ~ 13.00	会議室	評議員会
	13.00 ~ 14.00	会議室	学会賞詮衡委員会
	13.00 ~ 17.00	第Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ会場	研究発表
	18.30 ~ 20.30	大阪府職員会館	懇親会
10月26日(月)	09.00 ~ 12.00	第Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ会場	研究発表
	12.30	会場正面玄関	記念撮影
	13.00 ~ 17.00	第Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ会場	研究発表
10月27日(火)	09.00 ~ 12.00	第Ⅲ会場	水質汚濆に関するシンポジウム
	13.00 ~ 17.00		見学

第 1 日 (10月25日) 漁具漁法，海況，漁況，資源，プランクトン，水質ポリューション

101. 底曳網の網成りの計算 ……………… 川上太左英・°中才 啓（京大農）
102. 底曳網のすり網の形状の変化について -II ……………… °鈴木乙彦・川上太左英（京大農）
103. 網地の強さについて ……………… 深沢文雄（水講）
104. 網糸に対する荷重の増加と伸長の変化 ……………… 松本 巖（神戸大教）
105. 網糸の摩耗 ……………… 本多勝司（東水大）
106. Sonobuoy による海中騒音ならびに魚群水中音の検知実験について
……………… °西村 実・間庭愛信（水産庁漁船研）

107. 気泡網に関する研究 -II. 二三の海産魚に対する駆集および遮断効果 ……………… 江波澄雄（鹿大水）
108. 網の近くに游泳している魚に投石威嚇を与えた場合のその魚の行動について
……………… 宮崎千博（三重大水）
109. 漁獲の機構―II ……………… 吉原友吉（東水大）
110. 計測に依る巾着網の研究 ……………… °近藤 仁・浜田悦之（東水大）
111. ブリ魚群の接岸時における行動について ……………… °野沢 靖（三重大水）・高芝一男（三重水試）
112. トカラ海域におけるカツオの漁獲水温について ……………… 盛田友弌（鹿大水）

113. ゴマサバの海域別産卵期の考察
……………… °田ノ上豊隆（鹿大水）・倉田洋二（都水試大島分場）・徳留陽一郎（鹿水試）
114. ダム放水のブリ定置漁況におよぼす影響の判定の一方法 ……………… 栗田 晋（東海水研）
115. 河川（主として木曽川，えび川）の洪水と伊勢湾の片口鰮漁況との関係
……………… 野々田得郎（三重大水）
116. 長時間採水による塩分，ビタミン等の測定 ……………… °黒木敏郎・野沢治治（鹿大水）
117. 海洋のビタミン B_{12} と漁況との相関 ……………… °黒木敏郎・柏田研一（鹿大水）
118. 磯建網の漁獲物の研究 ……………… 塩川 司（九大理天草臨海実）

119. 魚類の耳石の成長について―I. オートラジオグラフィー法
……………… °入江隆明・申 正九（広大水）
120. タチウオの回游と漁業について ……………… 塚原 博（九大農）
121. 以西底曳漁場における漁獲量の推定について ……………… 木部崎 修（西水研）
122. 東北のカツオと薩南のカツオ ……………… 安田秀明・松永英雄（東水大）

123. チダイの成熟について ……………… °三尾真一・相川広秋（九大農）
124. 若狭湾産マダイの年令と成長 ……………… 赤崎正人（京大農）
125. 外海性海湾の海況におよぼす陸水流入の影響，並びに人工放水による影響の予察
……………… 坂本市太郎（三重大水）
126. 伊勢湾における海況変動とプランクトン分布について
……………… 故赤塚孝三・上野福三・三谷勝次（三重大水）・宮村光武（三重水試）
127. *Corycaeus* (*Ditrichocorycaeus*) *affinis* McMURRICH の nauplius larvae の変態
……………… 古賀文洋（九大農）
128. 標識調査によるナガス鯨の年令および成長の検討 ……………… 大隅清治（鯨研）

第 2 日 (10月26日) 増殖，プランクトン，水質ポリューション，生理生態

151. 醗酵工場廃水の浅海におよぼす影響……………………………………赤築敬一郎（水講）
152. イソメ毒 (Nereistoxin) の水産動物に対する毒作用に関する研究
………°平山和次（須磨水族館）・松江吉行（東大農）
153. 水質汚濁の生物試験法について（第2報）…………………°大久保勝夫・大久保孝子（東海水研）
154. 海中における溶存気体の現場飽和度と気泡生成の限界について（予報）………松江吉行（東大農）
155. 好気的条件下における海水中有機物の炭酸ガス発生量について……………亀高洋介（神戸商大）
156. 魚類の嫌忌反応を試験するための濃度傾斜槽…………………………………石尾真彌（九大農）
157. 新濃度傾斜槽を用いての魚類の嫌忌試験………………………………………石尾真彌（九大農）

158. 種々な毒物中において見られる鯉の異常所見について
………°村地四郎・新庄寿彦・片山　高（広大水畜）
159. 水槽内における各種環境条件の研究—III. ………°出口吉昭・東　禎三・小久保清治（日大農獣）
160. 美保湾，中海および宍道湖の浮游生物相……………………………山路　勇（京大瀬戸臨実）
161. 魚の游泳方向について……………………………………………………内橋　潔（日水研）
162. いさざあみ (*Neomysis intermedia*) の生態学的研究—II. 食性について
………°村野正昭・松江吉行（東大農）
163. いさざあみ (*Neomysis intermedia*) の生態学的研究—III. 塩分の影響について
………°村野正昭・松江吉行（東大農）

164. 底棲魚の血液について ………………………………………°出口吉昭・添田秀男（日大農獣）
165. ニジマスにおけるストロンチウム，カルシウム差別率について……………市川竜資（放医総研）
166. メクラウナギの光感受性…………………………………………………………小林　博（水講）
167. キンチャクダイ *Chaetodontoplus septentrionalis* の卵発生
………°藤田矢郎（めかり水族館）・水戸　敏（九大農）
168. 魚体各部臓器の死後変化に関する組織学的研究…………………………日比谷　京（東大農）

169. ヒトデの生態観察 ……………………………………………田村　正・°富士　昭（北大水）
170. マガキの血球の形態と種類とについて ………°田中小治郎・高杉輝雄・満岡　弘（香川水試）
171. 魚介類の夜間活動について ………………………………………°永田　正・宇野　寛（東水大）
172. ウミタナゴ精巣の季節的循環について……………………………………水江一弘（長崎大水）
173. シイラ *Coryphaena hippurus L* の卵発生……………………………………水戸　敏（九大農）
174. 魚胚の発生過程におけるメチレン青染色について…………………………浜野　繁（北大水）

175. 卵巣成熟度の数値に依る表現法と東支那海における黄鯛の産卵について
………岡　正雄（長崎大水）
176. 一網漁獲高から見た黄鯛の群構成…………………………………………岡　正雄（長崎大水）
177. 主要附着生物の高温抵抗について………………………… °平野礼次郎・大島泰雄（東大農）
178. 養殖虹鱒の体形および内臓諸器官の大いさについて
……… °白旗総一郎（富士和養漁生組）・島津康祐・狩谷貞二（東北大農）
179. ビワ湖産フナの形態学的研究（予報）…………………………………友田淑郎（京大理）
180. ブリの生殖腺成熟速度の雌雄による差異……………………………………三谷文夫（京大農）

第 1 日 （10月25日） 増殖，生理生態

201. pH の調整と海産 *Monas sp.* の培養について……………………………税所俊郎（鹿大水）
202. *Aphanomyces* 菌の寄生によるタマミジンコ *Moinamacrocopa* STRAUS 冬卵の減耗について ………………………………………………村上　豊（広大水畜）
203. 塩釜湾の窒素変動について……………………………°川崎典子・長倉克男（東北水研）
204. 畜養場の水変りについて………………………………………………橘高二郎（神戸大教）
205. 水中林（粗朶魚巣）に対する淡水魚群の集まり方の季節的変化について ………°古川　優・山中勇太郎（滋賀水試）
206. 昨年および今年の利根川における草レン魚の産卵状況……………………稲葉伝三郎（東水大）
207. 草魚卵および稚魚の塩分抵抗（予報）…………………………野村　稔・°稲葉伝三郎（東水大）
208. 養鰻池のプランクトン相に対する池替の影響 ………伊藤　隆・°岩井寿夫（三重大水）・赤嶺安彦（三重水試伊勢湾分場）
209. 養鰻池におけるウナギの摂餌量と環境条件との関係 ………°伊藤　隆・岩井寿夫・大橋　清（三重大水）
210. 養鰻池の動物プランクトンに対するディプテレックス乳剤撒布の影響 ………伊藤　隆・大橋　清（三重大水）
211. シマアジの養成について…………………………………………………原田輝雄（近畿大農）
212. クロダイの孵化仔魚の飼育とその成長について ………笠原正五郎（東大農水実）・平野礼次郎・大島泰雄（東大農）
214. シロチョウガイの年令に関する考察………………………………相良順一郎（東海水研）
215. ニジマスの生育におよぼす餌料成分（脂肪）の影響（魚体脂質の代謝に関する研究—IV.） ………小野豊樹・永山文男（東水大）・増田　績（東京都水試）
216. 天然飼料による稚鯉の生長について……………………………………千葉健治（淡水研）
217. 薩南近海のブリの種苗……………………………°今井貞彦（鹿大水）・九万田正巳（鹿水試）
218. エゾアワビ漁場の生産性の推定に関する研究　第1報．介殻の色彩による推定 ………酒井誠一（東北大女川水実）
219. 神奈川真鶴地先イセエビの二三の知見 ……………………°丸山武男・平井政治（東海水研）
220. ガザミのゾエア幼生飼育と投餌について…………………………八塚　剛（高知大宇佐臨海）
221. 産卵用蛸壺投入によるマダコの増殖について ……………………°田中二良・大島泰雄（東大農）
222. 流れ藻の海藻学的研究—XIV．津屋崎—沖ノ島間の流れ藻量の周年変化 ………瀬川宗吉・沢田武男・°吉田忠生（九大農）
223 流れ藻の海藻学的研究—XV．壱岐対島東水道の流れ藻量の季節的変化 ………瀬川宗吉・沢田武男・°檜垣正浩・吉田忠生・香村真徳（九大農）
224．流れ藻の海藻学的研究—XVI．九州西海域の流れ藻量の調査 ………瀬川宗吉・沢田武男・°檜垣正浩・吉田忠生（九大農）
225．流れ藻の海藻学的研究　XVII．標識流れ藻などによる流れ藻の移動についての考察 ………瀬川宗吉・沢田武男・°檜垣正浩・吉田忠生（九大農）

226. 海れ藻につく魚類と二，三の環境要因……………………………広崎芳次（江ノ島水族館）
227. ワカメの生態に関する研究—V．養殖したワカメの形態について………斎藤雄之助（東大農水実）
228. ノリ糸状体の生長と二，三環境要因との関係……………………………尾形英二（水講）
229. アマノリ類に寄生する壺状菌について……………………………………新崎盛敏（東大農）
230. アサクサノリに対するカツオ内臓液化物の肥料的効果について—I
………金沢昭夫・°柏田研一・柿本大壱（鹿大水）
231. 伊豆半島における天草の豊凶と海況………………………………………山崎　浩（静岡水試）

第　2　日　(10月26日)　水産化学，水産利用，細菌

251. 魚肉腐敗細菌のチラミン生成作用 ……………………………木俣正夫・°河合　章（京大農）
252. 電気殺菌法の研究—XXVI．好気性芽胞形成細菌胞子の生育における魚肉懸濁培地の
pH と防腐剤の静菌力 ……………………………………°上野三郎・清水　亘（京大農）
253. 魚粉の滅菌および更生について ………………………大島　浩°笹島正秋・石垣知子（北水研）
254. 枯草菌胞子の発芽過程に対する防腐剤の効果について …………°谷口忠敬・銭谷武平（長崎大水）
255. 1958～1959 年におけるマグロ・カジキ類腎臓の放射能について
………°鮫島宗雄・斎藤　要・高田幸二（鹿大水）
256. 腸球菌に関する研究—IX．飲食品および水における腸球菌についての観察
………堀江　進（東水大）

257. 海洋性硫酸塩還元細菌の塩分要求について…………………………………畑　幸彦（水講）
258. 海洋性硫酸塩還元細菌の発育ならびに activity におよぼす金属塩類の影響について
………畑　幸彦（水講）
256. CTC にによるスケソウタラの船内鮮度保持効果および魚体内 CTC 分布
………°宇野　勉・中村全良(北水試)・徳永俊夫(北水研)
260. CTC 処理魚よりの種々の加工製品の試作と CTC の分布
………°宇野　勉・中村全良(北水試)・徳永俊夫(北水研)
261. CTC による底引網漁獲物の鮮度保持 ………………篠山茂行・°浜田七郎・山田紀作（西水研）
262. CTC の鮮度保持効果に対する耐性菌の重要性について …………富山哲夫・°米　康夫（九大農）
263. CTC 処理底引漁獲物における CTC の体内分布 ………………富山哲夫・°米　康夫（九大農）

264. 抗生物質による魚類の鮮度保持に関する研究—I．CTC および CTC 処理した魚類の
腐敗様式 …………………………°河端俊治・阪口玄二・阪口澄子・中村友光子・
赤野多恵子・城水君子・興津知明（予研）
265. 抗生物質による魚類の鮮度保持に関する研究—II．CTC および CTC の安定性および
加熱による破壊……………………°河端俊治・阪口玄二・中村友光子・赤野多恵子（予研）
266. 塩干品製造中の CTC 含量の変化および CTC に対する日光，紫外線の
影響について…………………………………………°山添健一・野口栄三郎（日水研）
267. 食品防腐剤に関する研究—I．温度，pH 等の細菌発育阻害効果への影響
………°興津知明(埼玉衛研)・河端俊治（予研）
268. 底棲魚の鮮度について……………………………………………………佐藤良裕（宮城衛研）
269. 底棲魚の低温浸出について　—鮮度低下との関連—……………………佐藤良裕（宮城衛研）

270. 食品の鮮度測定法に関する研究—XII. 魚肉の揮発性還元物質 (VRS) の改良定量法
……… °富山哲夫・池浦一也・大山重信（九大農）
272. 抗生物質のE型ボツリヌス毒素産生におよぼす影響
……… °阪口玄二・阪口澄子・河端俊治・中村友光子・赤野多恵子・城水君子（予研）
273. Marine bacteria に関する研究—IV. 分離菌株の諸性状（その3）
……… 坂井 稔・木村喬久・°信濃晴雄・松浦哲夫（北大水）
274. Marine bacteria に関する研究—V. 北洋海域における菌数の垂直分布について
……… 坂井 稔・°木村喬久・信濃晴雄・松浦哲夫（北大水）
275. オキヒイラギの発光細菌に関する研究—IV. 発光を強める培養条件について
……… 末広澄夫（九大水実）

276. 食品微生物に対するガンマ線の作用—IV. 好気性有胞子細菌の照射後の増殖
……… 門田 元・°柴田 弘（京大食研）
277. 硫酸塩還元細菌の生理—I. 数種の淡水性および海洋性菌種におけるデヒドロゲナーゼ能と硫酸還元との関係……… 門田 元・°三好英夫（京大食研）
278. 防腐剤の作用機構に関する研究—XI. 糸状菌によるホルムアルデヒドの分解について
……… °山田金次郎・松村治子（東海水研）

第 1 日 (10月25日) 水産化学，水産利用

301. 寒天稀薄水溶液の粘度……………………………… 坂元道太郎・°岸本　昭（京大農）
302. "いたにぐさ" より寒天の新製造法に関する研究—III. 脱色法について
………小島良夫・°田川昭治（水講）
303. "いたにぐさ" より寒天の新製造法に関する研究—IV. いたに寒天製造の
工業化について……………………………………°小島良夫・田川昭治・香野　実（水講）
304. イソメ毒 nereistoxin の抽出法ならびにその化学的性質…………橋本芳郎・°岡市友利（東大農）
305. ヒトデの毒成分……………………………………………°橋本芳郎・安元　健（東大農）
306. 魚肉の褐変に関する研究—II. ……………………………… 小野豊樹・°永山文男（東水大）

307. タラバガニ缶詰肉の褐変現象に関する研究　第6報. 脱皮前後のカニ肉の成分の
差異と褐変との関係……………………………………°長沢善雄・谷川英一（北大水）
308. 北洋産塩干タラ製造に関する研究　第1報. 乾燥法と製品々質
………谷川英一・°下森　明・秋場　稔（北大水）
311. 立塩用食塩水の簡易回収法…………………………… 富安行雄・°榎本則行・泉外喜雄（九大農）
312. 数種貝殻中の微量成分について…………………………………………堀口吉重（三重大水）
313. 放射線照射による真珠の変色と微量成分の関係について
………°堀口吉重・辻井　禎・岡田彌一郎（三重大水）

314. 酸化魚油の抗菌作用に関する研究—XII. イカ肝油 Methyl ester 酸化物中の carbonyl
化合物…………………………………………………………………… 豊水正道（九大農）
316. ミシマオコゼ肝臓中のアントラニール酸誘導体およびビタミン B_6, Niacin について
………田中瑞穂・°山田紀作（西水研）
317. 水産物の油焼防止に関する研究—VII. 界面活性剤との併用について
………安藤一夫・猿谷九万（東水大）
318. 水産動物燐脂質に関する研究（第23報）………………………°座間宏一・五十嵐久尚（北大水）
319. 水産動物燐脂質に関する研究（第24報）………… °五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男（北大水）

320. 自然水中のビタミン B_{12} に関する研究—IX. 池田湖およびその周辺湖水の
B_{12} 量とその変化……………………………°柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫（鹿大水）
321. Pollack vitamin oil 分子蒸溜油の cholesta-3,5-diene について
………内藤幸次・徳田節子・°橋本芳郎（東大農）
322. 水産生物による ^{32}P の吸収および代謝に関する研究—II. 水中 ^{32}P の各種酸
可溶性燐化合物への移行について………………°小林邦男・大山重信・富山哲夫（九大農）
323. ニジマス消化酵素の研究……………………………… 立野新光・°北御門学（三重大水）
324. 魚類プロテアーゼの蛋白分解に対する特異性について…………… °藤井　実・富田輝雄（水講）
325. 柔魚内臓の生化学的研究—III. 内臓抽出液の proteolytic activity について
………髙橋　喬（三重大水）

326. 水棲動物炭酸脱水酵素の比較研究—II. ………………… °清水千秋・福原忠信（長崎大水）

327． 水産動物筋肉の酵素化学的研究—2． 好気的条件における解糖作用について
……… 吉村克二・°柴田　猛（北大水）
328． ペプシンの種属差…………………… °石原義雄・米田義昭・伊藤裕三・斎藤恒行（北大水）
329． アコヤガイ足糸腺のチロシナーゼについて……………… °銭谷武平・谷口忠敬（長崎大水）

第　2　日　(10月26日)　水産化学，水産利用

351． 水産動物肉に関する研究—XXXXIII． 貝肉エキス中の有機酸について (その 2).
……… °高木一郎・清水　亘（京大農）
352． 水産動物肉に関する研究—XXXXIV． 貝肉成分の貯蔵による変化 (その 1).
……… °高木一郎・清水　亘（京大農）
353． 水産動物肉に関する研究—XXXXV． 冷蔵中のエビ肉エキスの遊離アミノ酸の消長
……… 藤田真夫・°遠藤金次・清水　亘（京大農）
354． 水産動物肉に関する研究—XXXXVI． 氷蔵中のエビ肉エキスの遊離アミノ酸の消長
……… °藤田真夫・遠藤金次・清水　亘（京大農）
355． するめエキスの塩基について補遺……………………………… 麓　禎康（神戸大教）
356． タイ肉のエキス成分について ……………………… 五十嵐久尚・°田上家久（北大水）

357． 水産動物のエキス成分—IV。 アワビ筋肉のエキス成分について
……… 鴻巣章二・°前田安彦・橋本芳郎（東大農）
358． 海藻の揮発成分に関する化学的研究—18報． コンブ *Laminaria* の揮発成分
について（追補）………………………………………… 片山輝久（広大水畜）
359． アサクサノリの生化学的研究—I． 窒素源添加培養による窒素成分の変化
（その 2）…………………………………… °伊藤啓二・松本文夫（広大水畜）
360． 紅藻より Taurine および N-Methylated-Taurine の分離について
……… 村田喜一・高木光造・°栗山光夫（北大水）
361． 魚筋肉の乳酸含量について ……………………… °土屋靖彦・国井　清（東北大農）
362． 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—XVII． イカ肉よりイノシン酸の
調製……………………… °斎藤恒行・松吉　実・新井健一・伊藤祐三（北大水）

363． 魚介および藻類蛋白の有効性リジンについて…………………………… 馬場春夫（栄研）
364． 魚肉ソーセージの腐敗細菌に関する研究—IV． 貯蔵中における揮発性有機酸の
生成について……………………………………… 木俣正夫・°赤松幹夫（京大農）
365． 水産練製品すり身の張力緩和の測定について ……………… °志水　寛・清水　亘（京大農）
366． 魚肉ハム，ソーセージに関する研究　第1報． 品質管理における各種検査法の吟味
……… °日引重幸・西出　亨・太田アツ子（極洋捕鯨研）
367． 魚肉ハム，ソーセージに関する研究　第2報． 各種原魚の性質の相違
……… °日引重幸・西出　亨・太田アツ子（極洋捕鯨研）
368． 魚肉ハム，ソーセージに関する研究　第3報． 抜取検査法および管理図法の
品質管理への応用……………………… °日引重幸・西出　亨・太田アツ子（極洋捕鯨研）

369． γ線照射による魚肉ソーセージの包装材料に関する研究
……… °平野敏行・菊地武昭・岡田郁之助(東水大)・岡本寿彦(徳島水産高)

370. γ線照射による水産動物中の SH に関する研究
……… 平野敏行・°菊地武昭・岡田郁之助（東水大）・岡本寿彦（徳島水産高）
371. 冷蔵および冷凍中における魚肉の変化 ………………………°佃　信夫・野口栄三郎（日水研）
372. 魚類ヘモグロビンの多様性—II ……………………………橋本周久・°松浦文雄（東大農）
373. サケマス類のヘモグロビンに関する研究—IV. 2種ヘモグロビンの物理的性質について……………………………………………………橋本周久・°松浦文雄（東大農）
374. 鰹肉の冷蔵保管中の変化—I. 水溶塩溶性蛋白の変化について
………°西元諄一（鹿大水）・田中和夫（東水大）
375. 鰹肉の冷蔵保管中の変化—II. 組織切片の観察について
………°西元諄一（鹿大水）・田中和夫（東水大）
376. 魚類蛋白質の吸水能におよぼす塩類効果 ……………………°長尾忠明・富安行雄（九大農）
377. 魚肉圧搾汁の熱凝着について ………………………………°髙橋豊雄・安室照子（東海水研）
378. 水産物の糖蛋白に関する研究（予報）. フジコの多糖類硫酸の結晶化について
………元広輝重（北大水）

水質汚濆に関するシンポジウム

座長　松　平　康　雄（広大水畜）

演題および講演者

（1）	農薬による汚濆	石　尾　真　彌（九大農）
（2）	製紙および火薬工場廃水の影響と浄化	富　山　哲　夫（九大農）
（3）	工場廃水による汚濆	新　田　忠　雄（内水研）
（4）	微生物と水質の汚濆	門　田　　元（京大食研）
（5）	水質汚濆と水産業	松　江　吉　行（東大農）

雑　　録

○ 2月関東在住役員会

1. **開催日**　昭和 35 年 2 月 26 日
2. **場　所**　東京水産大学会議室
3. **出席者**　田内会長，外 12 名
4. **議　事**

a．藤原賞および朝日科学奨励金の件

上記について各支部長宛に推薦候補論文および研究の推薦を依頼した。

b．学術会議中央選挙管理委員候補者の選出について

出席役員による投票の結果，松江吉行氏，檜山義夫氏および松浦文雄氏が候補者として挙げられたが，前二氏が辞退されたので，松浦文雄氏に決定した。

c．農学会分担金の件

昭和 35 年度農学会分担金は 11,472 円（平等割 3,000 円，会員割 8,472 円）に決定した。

d．農学運営委員会報告

e．対外関係：26巻1号より交換2件，つぎのとおり。

i) Instituto de Biologia maritima, Ministério da Marinha（リスボン）．交換書目は "Notas e Estudos." (XI-11)

ii) Lenin State Library of the USSR（モスコウ）．交換書目は露文誌（年6冊刊）"Рыбоводство и рыболовство (Eish-Breeding and Eishery)." (II-18)

f．入会承認

個人　3名

団体　1

○ 昭和 35 年度日本水産学会九州支部第 1 回例会

日　時　昭和 35 年 2 月 20 日（土）午後 1 時半

場　所　貿易会館2階会議室（福岡県庁前）

シ ン ポ ジ ウ ム

魚 類 生 活 史 研 究 に つ い て

(1) 現状および将来の問題……内田恵太郎

(2) 試料採取方法について……今井貞彦

(3) 仔魚飼育と移植の問題……道津喜衛

(4) 浮性卵査定と人工授精……水戸敏

(5) 生活史研究と魚類資源について……塚原博

(6) 討　議

日本海西部におけるシイラ漁況の研究—V.
漬木つき魚種について*

児　島　俊　平

(1959 年 7 月 17 日受理)

FISHING FOR DOLPHINS IN THE WESTERN PART OF THE JAPAN SEA—V. SPECIES OF FISHES ATTRACTED TO BAMBOO RAFTS*

Shumpei KOJIMA**

During the months from June to October "Shiira-zuke" fishery is operated off Shimane Prefecture on the Japan Sea coast with help of bamboo rafts serving as floating shelters for the dolphin, *Coryphaena hippurus*, and other fishes. (For construction of the raft see KOJIMA, 1956. Bull. Jap. Soc. Scien. Fish., 21: 1049～52). In catching fish gathering around the shelters purse seines are used. The present work deals with relative importance of catches by species and individual size on the basis of the data made available for the 1955～58 seasons.

In Table 1 the amount of landings from four fishing units is indicated by species and month. As the fishing season lasts from early summer till autumn, a majority of catch is represented by warm-water species. Of the total weight of the annual catch, the dolphin occupied 93～96 percent, the rest being composed of such species as *Seriola*, filefish (*Monacanthus cirrhifer*), and hardtail (*Caranx helvolus*). Each of them seems to occur in almost the same months every year under study. As skipjack and tunas can not be caught by purse seine, their catches as in Table 1 must have been made by angling during the trip from one shelter to another.

Numbers of individuals sampled from "shiira-zuke" catches at various ports were identified as to species, and the total length of them measured as in Table 2. In a report by previous workers the size of fish following drifting seaweed was noted. They were smaller in size than those observed in the present work. Differences in the size of fish are attributable to the fact that the former group of fish following drifting substance is too small, while the latter staying with the bamboo shelter kept at a point is large enough, to resist the current.

海面に浮漂する流れ藻，流木には重要魚種の仔，稚魚および成魚が附随して漂流していることは一般によく知られておる。内田・中村等は流れ藻に附随漂流する魚類稚魚 30 余種を明らかにするとともに，流れ藻と稚魚の量的な関係も調査している[1]。しかしながら流木については，古くから漁業的関心が持たれているにかかわらず僅かに矢部[2]の観察報告があるに過ぎない。

著者は今回，海面に定置したシイラ漁業の漬木に蝟集する魚種を調査したので報告する。

調　査　方　法

この研究に用いた資料は，1955 年 6 月から 1958 年 10 月にわたり島根県邇摩郡仁万，益田市津田および山口県阿武郡江崎港のシイラ旋網船が沖合に定置していた漬木によつたもので流木，流藻によるものは除外した。

---

* 島根県水産試験場業績

** 島根県水産試験場 (Pref. Fish. Exp. Shimane, Japan).

Table 1. Landings of "Shiira-zuke" Fishery (four units)

Month Year	June				July			
	1955	1956	1957	1958	1955	1956	1957	1958
Number of trips	12	9	2	9	45	73	42	65
シイラ Dolphin	1,429	686	64	709	7,568	22,797	5,921	25,013
ブリ Yellowtail	4	6	—	—	25	551	1	78
ヒラマサ *Seriola aureovittata*	—	26	—	—	22	40	—	115
ウスバハギ *Aluteres monoceros*	—	—	—	—	—	—	3	130
アミモンガラ *Canthidermis maculatus*	—	—	—	—	—	—	—	—
オキアジ *Caranx helvolus*	—	—	—	—	—	—	—	0
カンパチ *Seriola purpursascens*	—	—	—	—	—	—	—	—
メジナその他雑 Miscellaneous	—	—	—	—	—	—	—	0
カツヲ類 Skipjack*	—	—	—	—	—	6	—	—
マグロ類 Tunas*	—	—	—	—	—	2	—	—
サワラ類 Spanish mackerel*	—	—	—	—	—	—	—	—
(Total)	1,433	718	64	709	7,616	23,388	5,925	25,337

* Catch seemingly made by angling during trips.

シイラ漬漁業は浮上する漬木に錨を付して海面に固定し，それに蝟集したシイラを旋網して捕獲するを目的とするから，網具の目合は大きくふくろ部 2.5～3.3cm であることと，旋網方法[3]の点から小魚は余り捕獲されないのが普通である。

結　　果

以上の方法で捕獲した魚種と量を示したのが Table 1 である。漁期が6月から 10 月の夏季に限られる関係から，温水性の魚類が多い。量的には総漁獲高の 93～96% をシイラ *Coryphaena hippurus* LINNÉ が占め，ついでハギ類 Manacanthidae, Balistidae が 1.5～3%，オキアジ *Caranx helvolus* FORSTER が 0.1～0.5%，ブリ類 Seriolinae は年により 1.5% 程度の捕獲があるが，その他の魚種はきわめて微々たるものである。

出現状況は例年ほぼ同様の傾向で，まずブリ類が6月から7月，ハギ類は7月から9月，オキアジ，メジナその他の魚類は8月から 10 月に主として捕獲されている。なお表中の魚種のうち，シイラにはエビスシイラ *Coryphaena equisetis* LINNÉ が，ヒラマサ *Seriola aureovittata* TEMMINCK & SCHLEGEL にはツムブリ *Elagatis bipinnulata* QUOY & GAIMARD が含まれており，メジナ *Girella punctata* GRAY，その他の魚類はゴクラクメジナ *Kyphosus lembus* CUVIER，イシダイ *Oplegnathus fasciatus* TEMMINCK & SCHLEGEL，イシガキダイ *Oplegnathus punctatus* TEMMINCK & SCHLEGEL などの小魚を総括したものである。またカツオ，マグロ，サワラ類 Scombridae, Gempylidae は旋網による捕獲はほとんど不可能であり，したがつて，これらは船が漬木からつぎの漬木へ航行中に曳縄で釣獲したものである。

蒐集した漬木つき魚類の全長範囲は Table 2 のとおり，相当大形のものであつた。

考　　察

漬木に蝟集する魚類の概略を明らかにした。魚種は漬木設置の季節的な関係からシイラ，ウスバハギ *Aluteres monoceros* LINNÉ，アミモンガラ *Canthidermis maculatus* BLOCH などの温水性のものが多く，暖水塊に伴つて来たと考えられる。また沿岸で普通に獲られるブリ，メジナその他の魚類も多かつた。

at Nima, 1955~58 (Unit of amount: kilograms)

August				September				October		Total			
1955	1956	1957	1958	1955	1956	1957	1958	1957	1958	1955	1956	1957	1958
58	86	79	83	43	24	77	60	27	7	158	192	227	224
13,665	21,395	45,138	56,318	11,910	2,014	32,955	67,973	11,318	878	34,572	46,892	95,396	150,891
0	136	—	2	5	27	11	8	3	—	36	720	15	88
—	—	2	2	—	2	—	156	—	64	22	68	2	337
506	610	1,311	4,018	389	154	1,711	6,600	295	236	895	763	3,320	10,984
—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	4
90	18	21	97	106	7	234	391	32	105	196	25	287	594
10	0	—	7	17	0	—	6	—	11	27	1	—	24
22	—	1	4	14	1	7	3	8	4	36	1	16	11
3	76	—	—	79	78	57	6	24	31	79	160	81	37
—	1,073	1	—	—	392	275	13	331	34	—	1,467	606	47
—	2	—	—	—	6	—	2	—	—	—	8	—	2
14,296	23,310	46,474	60,448	12,520	2,681	35,250	75,158	12,011	1,367	35,863	50,105	99,723	163,019

Table 2. Total Length Range of Fishes Sampled from "Shiira-zuke" Catches (Unit of length: millimeters).

Species \ Date of sampling		1955~'58		Number of individuals sampled
		July~Sep.	Oct.	
シイラ	*Coryphaena hippurus* L.	220~1100	350~ ?	300
エビスシイラ	*Coryphaena equisetis* L.	350	410	3
ブリ	*Seriola quinqueradiata* T. & S.	300	300	2
カンパチ	*Seriola purpurascens* T. & S.	160~180	230	4
ヒラマサ	*Seriola aureovittata* T. & S.	440~460		2
ブリモドキ	*Naucrates ductor* L.	240~260		2
ヒラソウダ	*Auxis thazard* LACÉPÉDE	230~265		5
オキアジ	*Caranx helvolus* FORSTER	200~260		14
(ヨロイアジ亜属の種)	*Caranx hemigymnostethus* BLEEKER		260	1
ウスバハギ	*Aluteres monoceros* L.	240~400	280	38
アミモンガラ	*Canthidermis maculatus* BLOCH	180~200	170~220	11
サウシハギ	*Aluteres scriptus* OSBECK	240~290	400	4
ツバメウオ	*Platax pinnatus* L.	130~150	150~180	6
メジナ	*Girella punctata* GRAY	50	70~ 90	6
ゴクラクメジナ	*Kyphosus lembus* CUVIER	110~230	80~200	49
イシガキダイ	*Oplegnathus punctatus* T. & S.	120~130		4
イシダイ	*Oplegnathus fasciatus* T. & S.	50~130	150~190	43
オヤビッチャ	*Abudefduf vaigiensis* QUOY & GAIMARD	60~ 90		6

Table 2 の全長範囲は九州沿岸の流れ藻調査[1]で採集されたものの限界に比べて一段と大形であつた。シイラ旋網によつて仔稚魚期の小魚が採集され難いのは網の構造に由来するものと思われるが，また，流れ藻と

漬木の流れに対する本質的な相違に基因することも考えられる。すなわち，流れ藻は水とともに流れるが，漬木は定置してあるから余り魚体の小さなものは趨流できないからといえよう[3]。

本文を終るに当り，御校閲を賜わつた日本海区水産研究所長内橋潔博士，御教示をいただいた九州大学内田恵太郎教授，調査に当つて御高配をいただいた神藤正場長，山口県田万川町中野清巳氏並びに種の同定に御協力を願つた鳥取県水産試験場千田哲資技師に厚く御礼を申し上げます。

文　　献

1) 内田恵太郎・庄島洋一： 本誌，**24**，6～7，411～415 (1958).
2) 矢部　博・森　徳見： 本誌，**16**，2，35～39 (1950).
3) 児島俊平： 本誌．**26**，4，379～382 (1960).

日本海西部におけるシイラ漁況の研究—VI.
漬木つき魚群の生態について*

児 島 俊 平

(1959 年 7 月 17 日受理)

FISHING FOR DOLPHINS IN THE WESTERN PART OF THE JAPAN SEA—VI.
BEHAVIOURS OF FISH GATHERING AROUND BAMBOO RAFTS*

Shumpei KOJIMA**

Behaviours of the dolphin (*Coryphaena hippurus* L.) and other fishes taking shelter around bamboo rafts were observed at sea off Hamada, Shimane Prefecture during the 1955~58 seasons. The observations on which the present report is based were made on board a commercial fishing boat, by trolling fish during oceanographic surveys, or by diving under a bamboo shelter. The following are essential results thus obtained.

1) All the fish attracted to the shelter were found staying in parallel with it. Most of them were centering either around the anchor line or at the head of the raft held against the current, but very few were at the tail of the raft.

2) In an underwater observation carried out in the daytime, the shadow of the raft was not so visible as it was from above the surface. Therefore, the area of the shadow assumed from the positions of the sun and the raft was compared with the distribution of fish around the shelter. The result revealed that a particular part of the shelter attracting fish was more dependant on the direction of the current than on the position of the shadow.

3) Among the various species swarming about the raft, the smallest was "mejina" (*Girella punctata* Gray) of about 5 cm. in length. When the author held out the hands to scare them, they fled away a little from the shelter but soon returned there again, without being driven off by the current. From that finding it may be feasible to consider that fish staying at the shelter are those having grown enough to resist against a normal speed of the current (Fig. 3). When the current was unusually fast, however, a very few dolphins, and still less the others, could apparently stay with the raft.

4) At night a lamplight held alongside the shelter was successful in getting dolphins to come out of the shelter. Seemingly the fish would stay under the shelter overnight.

5) In vertical distribution along the anchor line, the larger the size of fish, the further they stayed away from the raft. Tendency in the horizontal distribution appeared nearly similar but was not so clear as in the vertical pattern (Fig. 4).

筆者は前報[1]において漬木に蝟集している魚類を 20 種近く明らかにした。それらの魚類のとる行動が漬木と如何なる関係にあるかは生態学上甚だ興味のある問題である。

本報は漬木に蝟集している魚類の生態について，魚撈作業からみた一つの観察結果である。調査はシイラ旋網漁船へ便乗して行うとともに[2]，海洋調査のかたわら漬漁場において曳釣の結果からも観察した。さらに未解決は問題については，潜水による観察を行つたが，永年シイラ旋網漁業に従事している漁業者達の多くの経験なども参考にした。

---

* 島根県水産試験場業績

** 島根県水産試験場 (Pref. Fish. Exp. Shimane, Japan).

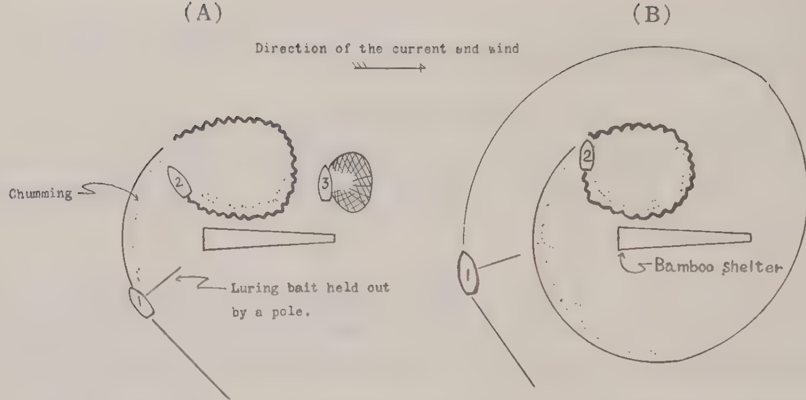


Fig. 1. Schematic diagrams showing usual process of purse-seine operation* for fish gathering around a bamboo shelter.
* In the morning and evening (A), the seine boat begins to encircle fish in a harrower area and closer to the bamboo shelter than it does in the daytime (B).

I. 漁 撈 作 業

漬木に近づいたら船の速力を落し，魚見は竹竿の先にイカを付けた誘いを海中に入れ，魚の蝟集状況をみる。魚がいると散餌を散布して誘導しながら，船は漬木との距離を約 10～15m にたもつて漬木の片側から潮上の漬頭部を迂回し，反対側に至ると順次に樽，網を投下して魚群を旋網し，漬木の横附近で揚網を始める。この作業はその時の潮流，風向に対処して色々と変化するが，潮上から潮下へ実施する方法が 普通に用いられる (Fig. 1)。また魚種並びにその時の状況によつては，対象魚が漬木から離れないことが時々ある。この場合には上述の方法では採捕できないから，漬木を内に入れて旋網し揚網の際に船と袖網との間隙から外部へ押し出す方法をとるが，潮流と風向が反対であることが望ましい (Fig. 2)。使用旋網の規模は，打ち廻し約 140m，水中にあつての最深部は約 10m，網目は袖網 9.1cm，ふくろ部 2.5～3.3cm で一方が広く開口した構造をしている。したがつて，揚網の際に魚の逸脱を防ぐため威嚇作業を行なうが敏捷な魚種や小魚の採捕はきわめて困難である。漬木ごと旋網した場合には小魚が僅少ながらみられる。

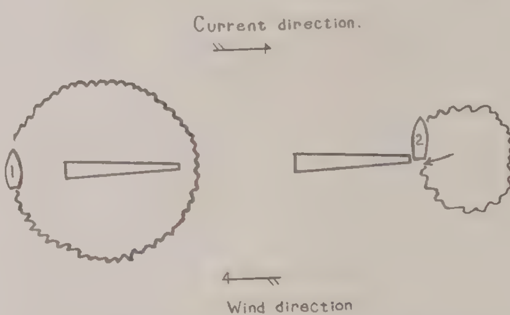


Fig. 2. Schematic diagrams showing another process of purse-seine operation* for fish staying with a bamboo shelter.
* The bamboo shelter is first encircled together with fish (Boat position 1). Then it is pushed out of the enclosure as the net is hauled up (Boat position 2).

II. 魚種別の生態

シイラ *Coryphaena hippurus* L.

漬木の周りで誘いを入れるか，曳縄を曳航すると，その附近に游泳している魚群はあらゆる方面から水面を跳躍しながら追跡*してくるさまが明瞭に観察される。魚がおれば一応曳縄を追跡してくるとみてよい。蝟集する魚群は曳縄の餌から半径 20～30m の範囲におよぶようである。游泳状況は朝，夕方には漬木の頭部の周辺に濃密で，曳縄を入れて漬木の周りを航走すると擬餌鈎が漬頭からやや潮上に移動した頃一斉に魚

* 曳航速力6ノット程度で最も釣獲され，それ以下に落すと擬餌と視覚の関係からか釣獲が悪い。

の追跡がみられた。3〜4 回廻つても同様の現象がみられるが，潮下の漬側面，尾部の附近では魚はあまり見受けられない。日中は魚群が僅少で餌付きも悪く，2回目を廻つて釣獲することは珍らしいことである。したがつて，旋網漁船も朝方，夕方には漬木の頭部に直走し 10m 内外で誘いを入れ散餌を散布して旋網に移るが，日中においては 20m 以上の遠くから誘いを入れ，漬木を大きく一旋回し2回目に旋網へ移つている (Fig. 1–B)。夜間も望月で凪の場合には旋網することもあるが，魚の燈火に対しての反応は認めがたく，行動も鈍く漁獲は朝方と同程度にみられた。しかしながら，集魚燈を点燈して釣具を投ずると漬木からシイラが出てきて釣獲される様が観察される。日中*の漁獲状況は朝，夕方の 1/3 程度であり，魚も朝方より広い範囲に点在していることは認めなければならない。

魚群を誘導する際に散餌として，イワシ，シイラなどの切片を散布すると，群れて摂餌をしながら潮下の漬側面附近までついてくるが，尾部附近に至ると反転して漬木へ逃避するものが多い。したがつて，できるだけ漬側面で揚網するよう旋網するのであるが，一度旋き損じたら二度目の誘いには前回の途中までくるがそれ以上の誘導は難かしい**。網中にあつては水平方向の逃避行動のみで，網底への潜行はほとんど認められなかつた***。

ブリ *Seriola quinqueradiata* T. & S.　ヒラマサ *Seriola aureovittata* T. & S.，ツムブリ *Elagatis bipinnulata* Quoy & Gaimard

これらの魚の漬木つきは6月から7月が最盛で，それから以降は微々たるものである。三者のうちブリ，ヒラマサは同量程度漁獲する機会があるが，ツムブリの魚つきは極めて僅少である。ブリ，ツムブリの游弋はシイラと大体同様の状態を示し，通常漬木から 10〜15m の範囲内におり，誘いや，散餌に対してはシイラに随伴して蝟集し旋網されるが，ツムブリは行動が敏捷で急速な潜行をするから日中の網にはほとんど乗らず薄明時に少量が捕獲される程度である。その反面，人間が漬木の下に潜ぐつても漬下から逃避しようとせず，むしろ興味あるがごとくに接近するよう感じた。

ヒラマサは群れで付いているときは，漬下から離れ難いからヒラマサ群とみたら漬木ごと旋網し漁獲するが，漬木の周辺でシイラと同時に釣獲もされる。

ウスバハギ *Aluteres monoceros* L.，アミモンガラ *Canthidermis maculatus* Bloch，ソウシハギ *Aluteres scriptus* Osbeck

8月から9月が最も多い。蝟集している場所は主として漬下の錨綱を中心として付いているが，漬木の周辺や尾部をつついているものもときたま見られる。ソウシハギは漬木1個に 2〜3 尾も付いておれば多い方であるが，アミモンガラは5〜10尾が群れており，ウスバハギ，ソウシハギより活潑に散餌に対して行動する。ウスバハギ****はアミモンガラなどより格段に多く，数百尾が付いているこもと珍らしくない。しかして，流れ漬木には漬木以上に蝟集するようである。この類の共通性として行動は緩慢であり，誘い，散餌に対しての反応も鈍く漬木から離れ難いために漬木ごと旋網して漁獲する場合が多い。

また筆者は 1956 年9月上旬，浜田港の 15 浬沖合で点燈してイカ釣試験を実施していた際に，潮上より游泳してきた2尾のウスバハギが船首から延びる錨綱へ吻端を接して止つたのをみとめた。水面から1m位のところなのでタモ網で抄い獲ろうとしたが，失敗するたびに僅かずつ沈下して2m位の深さになつたので断念したことを記憶している。カワハギ *Stephanolepis cirrhifer* T. & S. の漬木つきは全々みられない。

オキアジ *Caranx helvolus* Forster

8月中旬から漬木つきがみられる。漬下に 10〜20 尾が群れて付いているが，游泳層はハギ類，ブリ，ヒラマサ類などよりも深い。散餌をすると浮上してきて餌を追つて網中に入るが，行動は甚だ鈍くハギ類より

---

* 漁業者はシイラは日中には漬木を離れて遠くへ遊びに出るが，夕方になると漬木に帰つてくるものと信じている人が多い。

** 漁業者は「手負い」と呼称し，誘いの状況から判断して漬木ごと旋網する方法をとる。

*** 脳内部の Saccus vasculosus に関係がある[3]。

**** 1958 年にはエチゼンクラゲの大発生をみたが[4]，本種も稀有の豊漁で本種のみで満船する日が続いた[1]。

やや活潑な程度である。

メジナ *Girella punctata* GRAY, ゴクラクメジナ *Kyphosus lembus* CUVIER, イシダイ *Oplegnathus fasciatus* T. & S.

漬木の真下におり，散餌をすると他の魚にしたがつて追つて行くが，すぐ途中で引き帰えす。魚体[1]が小さいので漬木ごと旋網した場合でも網の構造上からごく僅かしか漁獲されない。

マグロ *Thunnus thynnus orientalis* T. & S., カツオ *Katsuwonus pelamis* L., ヒラソウダ *Auxis thazard* LACEPEDE

これらの魚も旋網船によつて水揚げされるが[1]，旋網で採捕されることは珍らしく，漬木からつぎの漬木へ航行する間に曳縄で釣獲するものである。しかしながらマグロ，カツオを盛漁した 1954 年および '55 年の 9～11 月の漁期には，小型漁船による曳縄業者が漬木から径 200m* 以内に入り接近して盛んに操業したためシイラ旋網業者と紛争が絶えなかつた。筆者も 1957 年 10 月上旬，浜田沖北 50 浬で漬木を廻り曳釣してマグロ 5 尾，ヒラソウダ 1 尾，ヒラマサ 1 尾を釣獲した。また，水中に潜ぐり魚を威嚇浮上さす漁夫の経験によれば，ヒラソウダはしばしば見受けられるが，潜水して網中に追わない限り捕獲は難かしく，カツオ，マグロに至つては潜水しても絶対に獲れないようである。

III. 潜 水 観 察

1955 年 7 月 25 日，浜田から北西 20 浬置点に設置された漬木について，12 時 30 分から約 2 時間にわたり水中観察した。当日は晴天で波浪なく，海面は平穏であつたが，海流は相当速く漬木から手を離すと瞬時に 1m 近くも圧流され，漬木につかまつているのが精一杯の状態であつた。この漬木は 6 月 20 日に設置したものであるが，すでに竹の表面には多数のエボシガイ *Lepas anatifera*, サンカクフヂツボ *Balanus trigonus* が付着しており，竹束を縛つた太い藁綱と錨綱にはウミサカヅキガヤ科 Campanularidae の一種が綱の上を 1～2cm の厚さで掩い，その上にワレカラ科 Caprellidae の一種がおびただしく群棲していた。

魚群の蝟集状況は，漬木の錨綱を中心として，その傾斜にしたがつて垂直的に分布しており，底部ほど魚体は大きく広範囲に分散していて，あたかも漬頭部を頂点とし錨綱を垂線とする円錐型をなしていた。漬木につかまると魚群は逃避反応を示して，錨綱のごく上層に数十尾が一団となつて群れていたメジナ群は漬木の間隙に沿つて水平に分散し，底部の大形魚は綱に沿つて 1m 位沈下するとともに分布範囲を縮小して逆円錐型に分布した (Fig. 3)。一番上層に分布するメジナ群は全長 5cm 程度のもので，上下左右に活潑な一種特徴のある游泳を示し，漬木につかまつている筆者の身辺を往来するものもあつた。手を伸ばして攻撃動作を行うと，一寸身を転じるが漬木から離脱するものはなかつた。底部にはイシダイ，イシガキダイの存在が特有の模様から確認できたが，ハギ類は水深 2～3m のところにあつて多数の識別困難な魚類とともに静かに錨綱に対して主として潮上に向い定位していた。また，船上から識別された漬木の蔭影については，水中に潜ぐつてみると漠然として明暗は判別できなかつた。したがつて，漬頭部の方向に対する太陽の位置から蔭影水面を推定し魚の分布を観察したが，その水面下に特に蝟集しているとは思えなかつた。むしろ蔭影にかか

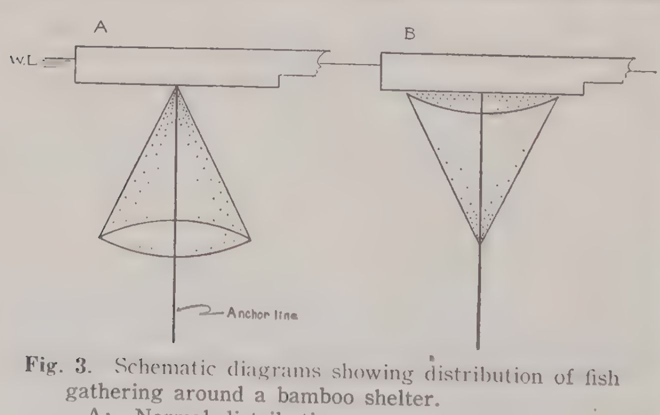


Fig. 3. Schematic diagrams showing distribution of fish gathering around a bamboo shelter.
A: Normal distribution.
B: Distribution when fish are scared.

* 漁業権により他船が 200m 以内に入り操業することは禁止されている。

わらず漬頭部*並びに錨綱を中心として分布し，その潮上で潮流に向い定位しておることから，蝟集場所は流向に強く制約されているようであつた。

IV. 考　　察

以上のことを綜合して，漬木に対する魚類の空間的な位置を基本的に示したのが Fig. 4 である。

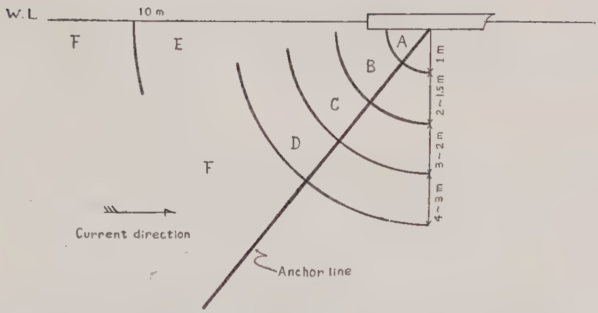


Fig. 4. Distributive zones of fish gathering around a bamboo shelter by species.

A: parrot bass, *Oplegnathus fasciatus*; *Girella punctata*; rudder fish, *Kyphosas lembus*.
B: amberjack, *Seriola purpurascens*; yellowtail, *Seriola quinqueradiata*; *Seriola aureovittata*; *Canthidermis maculatus*.
C: *Alutera monoceros*.
D: hardtail, *Caranx helvolus*; *Promethichthys prometheus*.
E: dolphin.
F: tunas and skipjack.

すなわち，潮流の圧流により潮上に傾斜した錨綱に沿つて構成された垂直的な分布状況は，漬木から水深 1m までのA層にメジナ，イシダイ等の全長 5cm 前後の幼魚が群れ，1.5～2m の B 層にはカンパチ，ブリ，ヒラマサの若魚やアミモンガラが分散し，2～3m の C 層にウスバハギ，3～4m の D 層はオキアジ，クロシビカマスが滞泳して漬木つき魚の最深部魚種となつている。一般に各層の魚種は魚体が大きくなるにしたがつて水深も深くなつており，A 層のイシダイ，メジナにおいてもやや大形のものは B 層に属している。漬木に対する水平的な分布状況は，垂直的分布の序列が如何なる機能によるかは不明であるが，漬木側面や尾部水面にハギ類が，またシイラの游戈水面にもヒラマサなどが散見されるところから，水平的分布はある魚種の日週期行動の過程にあつては，その垂直的分布を水平に移したものと考えてほぼ差支えないようである。しかして，漬木から主として潮上水面の 5～10m の E 水面にはシイラ，ヒラソウダ，それより以遠のF水面にはマグロ，カツオが游戈しており，またE水面にも散見される。以上はあくまでも基本的構造であつて，実際においては規格的な游泳範囲の層別はそれほど明瞭でなく，数種類の魚が各層に混泳している場合が多い。

蔭影と魚類の関係については，従来から色々と論議されているが，一般には魚附林，流木等につくことは心理的に防禦の手段として，その蔭に潜むものと考えられている。事実，沿岸性の魚類については，その行動はしばしば経験するところである。しかし漬木つき魚類は前述の通り漬下の錨綱に沿つて円錐形に蝟集し潮上に向つて定位しており，魚つき場所は漬木のなす蔭影よりもむしろ流向によつて制約されているよう観察された。しかしながら，甚だ興味あることは漬木尾部の周辺には水平的に，垂直的にも魚つきはきわめて稀薄であるが，漬頭部並びに潮上の海面には E, F 水面にわたり濃密な魚つきが存在することである。この相違については，潮上の E, F 水面に游戈する魚類の主体がカツオ，マグロのごとく強力な游泳力と潜行力を持つていることと，その游戈水面下には傾斜沈行する錨綱の存在が推察されるところから，ある水深下の錨綱の存在と E, F 水面の魚類との間に密接な関係のあることが考えられる。したがつて，魚つき場所は流向と錨綱によつて制約されているといえるであろう。加えて，漬木の新旧[2]によつて魚つき量が異なることからも，単に蔭影を好むとか，防禦の手段として身を隠すことが一義的なものとはいいきれないようである。故に蔭影に対する行動について沿岸性魚類と沖合性魚類を同一視することは甚だ危険である。また漬木には全長 5cm 前後のメジナが数十尾群れていたが，本種は他種に比べて格段に小形のものであつた。これを威嚇すると一寸体をかわすが，すぐ元に帰り漬木から離れてしまうものはなかつた。一般に潮流の速い場合に

* 漬木の頭部は常に潮流に向つて位置している。

は漬木の尾部が水面を離れて空中に浮くことがあるが，このような場合はシイラを始め魚つきはきわめて悪い。しかして錨綱が切れて漂流する漬木には流れ藻と同じく仔稚魚が伴なうから，漬木につく魚種は潮流に対して抵抗力のある魚体のものでないとつかないと認められる。

V. 要　　約

1955 年から '58 年にわたり島根県浜田港沖合において，漬木につく魚類，シイラ，ブリ，ハギ，メジナ，カツオその他の生態をシイラ旋網漁業，曳釣および潜水調査によつて観察した。

1）漬木の周辺に蝟集している魚類は全て潮上に向つて滞泳し，かつ常に漬木に対して平行的に定位していた。

2）魚つき場所は漬木の陰影よりもむしろ流向と錨綱の存在に制約されていた。しかして魚の游戈範囲は錨綱の傾斜方向と密接な関係が認められた。

3）漬木つき魚類は潮流に抗して滞泳できる程度に成長したものである。

4）シイラは夜間においても漬木についていることが判つた。

5）漬木に対する魚種間の垂直的・水平的構造を述べた。

終りに御校閲を賜わつた日本海区水産研究所長内橋潔博士，九州大学内田恵太郎教授，および本研究に当り終始御高配をいただいた神藤正場長，資料の蒐集に協力を願つた科員高木松君に謹んで深甚の意を表する。

文　　献

1）児島俊平：本誌．**26**，4，383～388（1960）．

2）————：本誌，**21**，10，1049～1052（1956）．

3）内橋　潔：日本海区水研報，2 号（1953）．

4）下村敏正：————————，7 号，85～107（1959）．

ノリ糸状体の生長—III.

生長の方向性について

尾　形　英　二

(1959 年 10 月 14 日受理)

STUDIES ON THE GROWTH OF *CONCHOCELIS*—III. TROPISM IN GROWTH DIRECTION

Eizi OGATA*

It was successively observed how the *Conchocelis* germlings grew in the shells which were faced sidewards in culture vessel.

The germlings spread the filaments inwards far off from the shell surface. Accordingly they tend to run horizontally at a right angle to gravity.

When the shells were laid in a prone position, the filaments also grew into inner layer of shells receding from their surfaces. Namely, they run upwards against the gravity.

Anastomosed filaments always throve in the close layers which run parallel to the shell surfaces having no connection with the direction to which their surfaces were faced.

Generally speaking, gravity shows no influence on branching and growth in *Conchocelis* filaments.

ノリ糸状体が貝殻中で内層に向つて穿孔生長し，ついに下面に達することは既報[1)2)]中でのべたとおりであるが，このような直根状の生長が重力に関係があるものかどうかは面白い問題と思われる。普通の糸状体の培養では，貝殻は内面を上にして水平におき，その上に播種されるから，直根状の枝は貝殻面(播種面)から遠ざかつて内層に，すなわち重力の方向に生長するわけである。もちろん，このような垂直に生長する枝（以下内向枝とよぶ）の他に，貝殻面直下の表層中で生長する枝（以下表層枝とよぶ）も存在する。これは主として表面に平行に走るわけで，したがつて内向枝の場合とことなり重力とほぼ直角の方向性があることになる。このような生長の方向性が貝殻面の角度を変えた培養によつて，変化を示すかどうか二三実験をおこなつて観察した。

材料および方法

最初にアコヤ貝から短冊型（約 1 cm×3 cm）に切りとつた小片を数個用意し，それらの内面（真珠層側）を上にして *Porphyra tenara* のいわゆる果胞子を播種（34 年1月 14 日）した。果胞子がよく附着するのを待つために 1～2 日ほど静置してから，これら貝殻小片の一端に穴をあけて海水容器中に吊し，その状態で培養した。すなわち貝殻の面はよこむきである。

この中から順次小片をとりだしてサンプリングをおこない，その断面を作つて観察した。断面を作る方法は既報[1)2)]の場合と同じであるが，この場合は吊していた小片の上下をマークして断面を作らなければならない。すなわち，プレパラート上で，もとの小片の上下方向が認識できるようにしておくわけである。

つぎに，貝殻面を逆にした場合の影響をみるために，播種した面が下側になるように貝殻を伏せて培養をおこなつた（34 年2月1日）。貝殻を伏せた場合，上側になる面は稜柱層および殻皮でおおわれている

* 農林省水産講習所 (Shimonoseki Coll. Fish.).

が，これらをとり除いたものと，除かないものと両方について実験をおこなつた。対照はふつうに播種面を上にしたものである。

結　果　I

貝殻をよこむきに吊して培養したものの 10 日目の断面をみると，内向枝は貝殻の内層に向つて生長し，長さ約 50 μ に達している。この様子は，ふつうに水平に培養した場合と変ることがない (Plate I, A)。

30 日目のプレパラートでは，内層 350 μ に達する枝がみられる (Plate I, B)。この頃にはいわゆる表層枝の発達もいちじるしく，匍匐枝のように表面直下の層で密になる。

培養 40 日におよぶと，いわゆる内向枝は長さ 500 μ に達している (Plate I, C)。そして貝殻面から遠ざかつて内層に向つている。すなわち，貝殻面はよこをむいているから，いわゆる内向枝は重力方向に直角に生長したことになる。場所によつては，やや斜め下に向う傾向もみられる (Plate I, B)。

110 日目にもなると，いわゆる内向枝は真珠層を貫通して，殻皮側に達するようになる (Plate I, D)。

このように，貝殻面をよこにむけて培養した糸状体の生長経過をみると，いわゆる内向枝はやはり貝殻面から遠ざかつて内層に，表層枝は表面に平行な層の中で生長している。いいかえると，貝殻面がよこむきでも上むきでも，糸状体の生長方向は全くふつうに水平に培養した場合とかわらない。すなわち，糸状体の生長には重力は関係がないらしくみえる。

貝殻小片の面は，それぞれ別な方向にむくように吊して室内散光の下で培養したから，光の影響はないものと考えられる。

このよこむき培養の 40 日目のものの表面観は，水平培養の場合と大差がみとめられない (Plate I, F)。しかし，110 日のものをみると多少一方にしだれているような生長傾向がみられるところもある (Plate I, G)。培養 15 日目のもののなかに，下端が鋸歯状の面をしたものがあつたが，偶然にその各面に同時に穿孔した糸状体がみられた (Plate I, E)。これをみると，内向枝は果胞子の附着した面にそれぞれ直角で，重力の方向と無関係なことがよく観察される。

結　果　II

播種面を下にして伏せて培養した場合はつぎのようである。

培養 30 日目のものでは，断面をみるとやはり糸状体は貝殻の内層に向つて 300 μ の長さに達している。播種した面が下面であるからこれは重力にさからつて上方に向つたことになる (Plate II, A)。これは，上面になつた稜柱層や殻皮をはじめから除いて真珠層のみにしてあつた場合である。これらを除いてなかつた場合は (Plate II, B) これより生長が悪い。

播種面を上にしてふつうに培養したものすなわち対照と，上面の殻皮等を除いて伏せて培養したものとをくらべると，やや対照 (Plate II, C) の方が生長がよい傾向はあるが，一般に大差はみとめられない。

培養が 95 日におよぶと，真珠層のみのものでは糸状体が下面から上面に達して (Plate II, D) ふたたび上面の直下で密に繁茂するようになる (Plate II, E)。

考　　　察

上述の観察からあきらかなように，貝殻の面（播種面）と糸状体の生長方向とは，常に一定の関係にあることがわかる。すなわち，貝殻面が上むきであろうと，よこむきであろうと，また下むきであろうと，糸状体の内向枝は常に貝殻面から遠ざかつて内層に向う傾向がみられる。また表層枝は常に貝殻面に平行な層で生長する。いいかえれば，糸状体の貝殻中における生長に対して，重力の影響はみられないといえよう。

光の条件は室内散光であるが，いずれの場合も光によつて生長方向が変化した様子はみられない。ただ，伏せた場合には，上側に殻皮があるかないかで生長の程度に差がみられたが，これは光の量の問題と思われる。したがつて光に対する方向性は少ないとみられるが，これはまだ検討の余地がある。

Plate I.

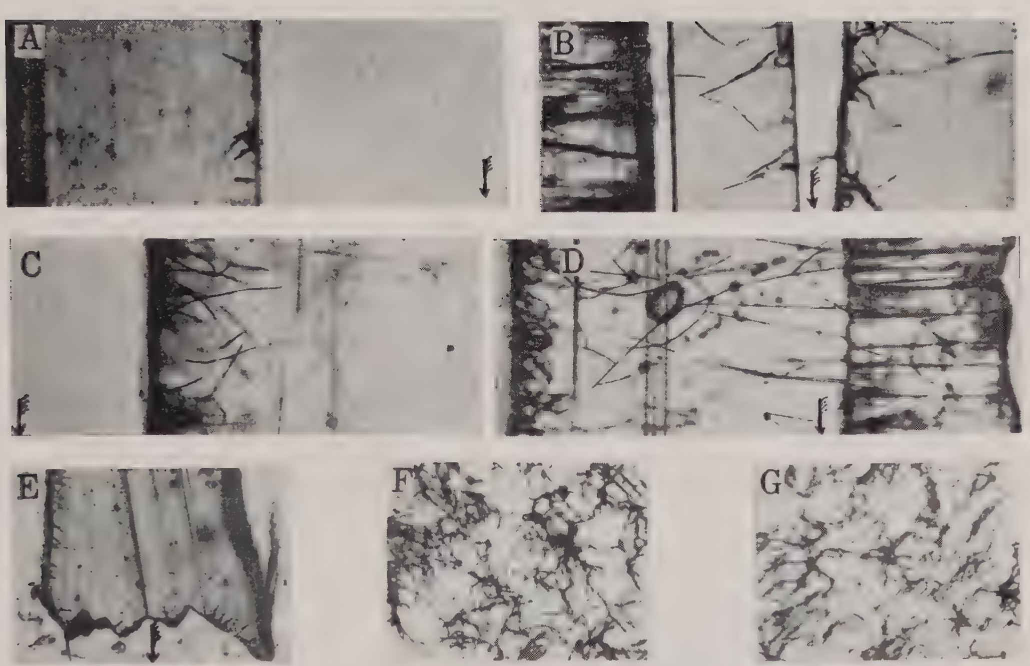
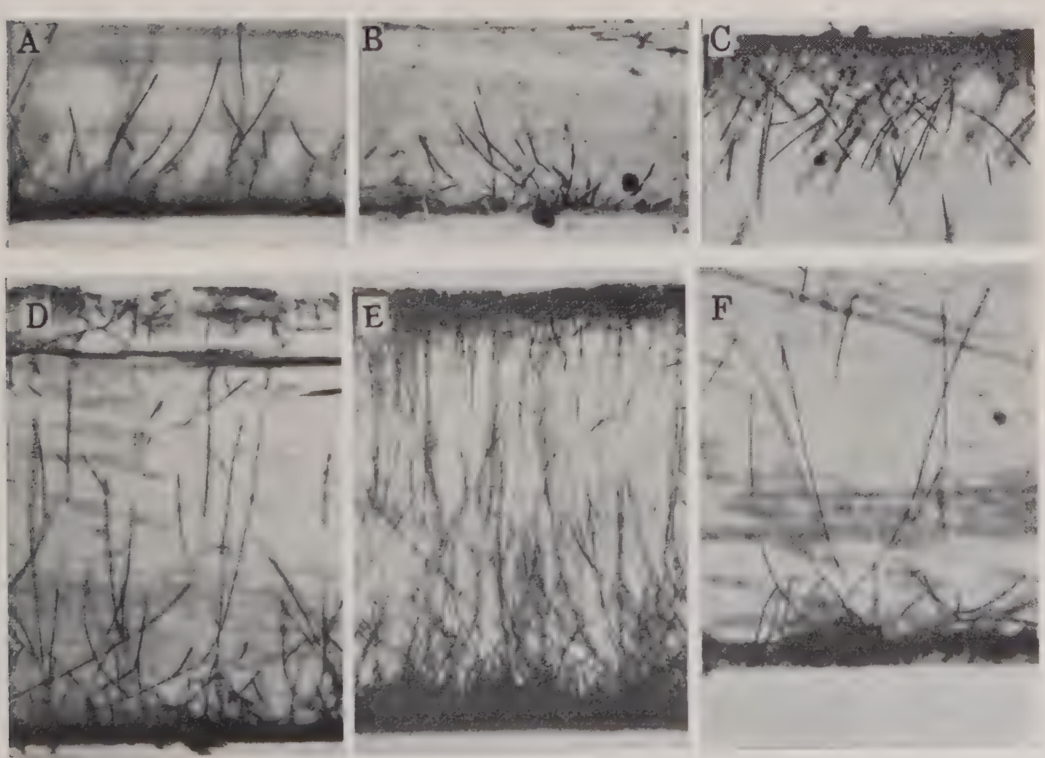


Plate II.



よこむきに培養した場合に，内向枝が多少斜め下に向う傾向があることもあるが，対照にも場所によつては一方向に傾くことがあるから，かならずしも重力の影響とはいえない。この場合の表面観がやはりしだれたようになつている場合もみられたが (Plate I, G) これは水平の場合の表面観にも多少あらわれる傾向であり，また右田・太田[3] が大理石に培養した場合にも同じようなことをみている。

これまでの考察から，重力・光以外の要因が糸状体の生長方向を規制するものと考えられる。すなわち，糸状体の生長には tropism があるが，その刺激となるものは重力以外のものと思われる。

摘　　要

1. 糸状体の生育する貝殻を海水中で，よこむきに，あるいは伏せて培養し，その生長方向を観察した。
2. その結果，貝殻面（播種面）が，上，下，横，いずれをむいていても，糸状体の生長状態には変化がみられなかつた。
3. すなわち，糸状体は貝殻の面に対して常に一定の方向に生長し，重力には関係がないようにみえる。
4. 糸状体の生長には，一種の Chemotropism があることを想像させる。

この論文をみて頂いた九大・瀬川博士，アコヤ貝についていろいろ御教示下さつた本所・吉田博士に厚く御礼申しあげる。

文　　献

1) OGATA, E.: *Bot. Mag. Tokyo*, **72**, 177 (1959).
2) 尾形英二: 本誌, **25**, 356 (1959).
3) 右田・太田: 長崎大学水産学部研究報告, No. 5 (1957).

Explanation of Plates

Plate I. Profile features of filaments growing in the sidewards facing shells.
A: 10 days, B: 30 days, C: 40 days, D: 110 days, E: Growth at serrated surfaces, 15 days, F: Surface view of B, G: Surface view of D. All ×100 except E (×40). Arrows show the direction of gravity.

Plate II. Profile features of filaments growing in the shells laid in prone position.
A: Periostracum and Prismatic layer of shell are removed, B: Outer face of shell is natural, C: Control (cultured in normal supine position). All 30 days (×100). D, E: Periostracum and prismatic layer are removed, F: Outer face is natural. All 95 days (×100).

ノリ糸状体の生長—IV

垂直的生長に対する光線・塩分濃度の影響

尾形英二

(1959 年 11 月 6 日受理)

STUDIES ON THE GROWTH OF *CONCHOCELIS*—IV. EFFECTS OF SOME ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE VERTICAL GROWTH

Eizi OGATA*

Growth rate in *Conchocelis*-filaments under some environmental conditions has so far been examined measuring the elongation of main filaments only for horizontal direction in shell matrix.

In this paper the elongation of filaments for vertical direction besides for horizontal direction was measured in order to elucidate the effects of light intensity and sea water concentration on the growth rate. Results are as follows:

1. It seems that the vertical filaments grow most rapidly under 2000 lux irradiation. But these cease to grow under the irradiation less than 5 lux. (Fig. 2, a; Fig. 2′).

2. In half diluted sea water, the vertical growth is a little worse than in the normal. Such filaments cultured in extremely concentrated (twice) or diluted (one eighth) sea water show no more elongation for vertical direction (Fig. 3, a).

3. Under the identical experimental conditions, both growth rates for vertical and horizontal directions scarcely show large gaps in the trends obtained in experiments (Fig. 2, a·b; Fig. 3, a·b).

ノリ糸状体の生長に対して各種要因がおよぼす影響についてはすでにいくらかの報告[1-6]がみられるが，これらの研究においては糸状体の生長を測定する方法として，水平方向の主枝の伸長を表面観察により計測する方法をとつている。しかし糸状体には貝殻の表面に平行な層中の生長ばかりでなく，垂直な方向に内層に向う生長もあることがしられたから[7)8)]，糸状体の生長について全般的に知るためには垂直方向の生長もしらべる必要がある。

筆者はこの見地から，糸状体の生長におよぼす光線，海水濃度の影響を主として垂直方向への生長を対象にして実験し，二，三の結果をえた。同時に平行方向の枝の生長もしらべたので，それらについて報告する。

材料および方法

糸状体は今までと同様 *Porphyra tenera* を母藻としてアコヤ貝の内面に播種してえられたものである。

測定前の処理としてはまず各条件で培養した貝殻を従来用いてきた方法[7)8)]どおりに断面のプレパラートを作る。つぎにこれらのプレパラートについて，顕微鏡下で糸状体の垂直方向の枝の長さをミクロメーターで計測する。すなわち，各プレパラートについて任意の視野をえらび，その中で表面に直角に近くかつもつとも長い枝の長さをはかる。このような計測を同一プレパラートについて 30 回行つてえた値を平均して測定値とした。実さいにはなるべく測定のかたよりをふせぐために，10 回ずつの計測を日時をかえて 3 回行つ

* 農林省水産講習所 (Shimonoseki Coll. Fish.).

ている。しかし，どの実験においてもこれら3つの平均値の間に大きな差はみられず，また変化の傾向もまつたくかわりがなかつたので，全部を総平均してあらわした。

また各実験について，糸状体の水平方向の生長が観察できるプレパラートを作り，それについても測定を行つた。この場合，母胞子を中心とした糸状体の長径にあたる主枝の長さを 30（あるいは 20）個体についてはかつて平均した。

結　　　果

生長と培養期間との関係： 各要因の影響を知るまえに，ふつうに室内培養（1958 年 12 月 6 日，同 18 日播種）した場合の生長についてしらべた。

この2系列の培養（室内散光，500～2000 lux，室温，自浄海水中）でえられたプレパラートについて，その垂直方向の生長を上記の方法で測定した (Fig. 1, a)。

これでみると，垂直方向の生長は，どちらも 60 日間の培養ではほぼ直線的といえよう。60 日以降は，垂直方向の枝は貝殻の外面（下面）に達したのでそれ以上は測定ができなくなつた。

12 月 6 日培養開始のもので同時に水平方向の生長を 30 個体測定した (Fig. 1, b)。この場合，水平方向に伸長した主枝はその末端が貝殻内層に沈む傾向があり，また 30 日以上培養したものでは各個体の主枝がさくそうするので水平方向の測定が困難になつた。したがつてあまり断定的なことはいえないが，がいして水平方向の生長は指数曲線的な傾向を示しているようにみえる。

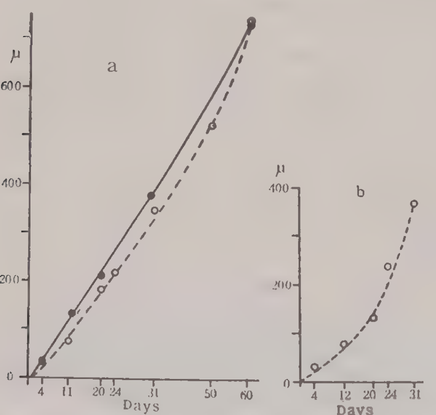


Fig. 1. Relations between the growth in *Conchocelis*-filaments and culture duration (room temp.).
Growth is expressed by the length of filaments elongated for vertical (a) or horizontal (b) direction.
‥○‥ culture initiated on Dec. 6, 58′.
—●— on Dec. 18, 58′.

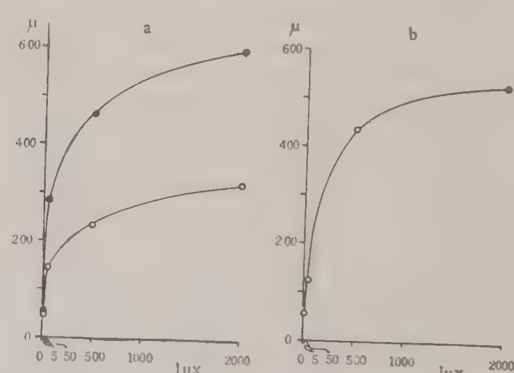


Fig. 2. Effects of light intensity on the growth of filaments at room temperature.
a: growth for vertical direction, b: for horizontal direction. --○-- cultured 15 days, —●— cultured 30 days.

光線の影響： 水面での照度がそれぞれ 5, 50, 500, 2000 lux になるように，40 W 真天然白色螢光燈の下にそれぞれ4段階のきよりをおいて培養容器を設備した。培養は暗室内（室温）で昼夜点燈のもとに自浄海水中で行つた。播種は 2 月 24 日に行い，あいだ1日静置して 26 日から実験にうつし，それから 15 日目，30 日目の2回サンプリングして測定した。

その結果 (Fig. 2, a) や写真 (Fig. 2′) にみられるように，5 lux 照射の 15 日後の結果ではわずかな生長がみられるが，以後 30 日目にいたるまでの間には生長がみられない。はじめの生長は播種後1日静置したときの影響であり，以後の生長停止は受光不足の結果とみられる。いずれにしても 5 lux では生長できな

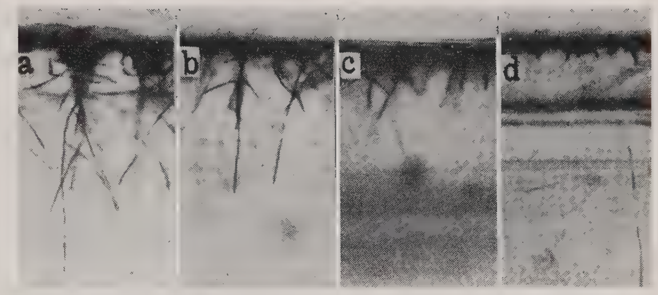


Fig. 2′. Photographs show the effects of light intensity on the vertical growth. 15 days cultured at room temp. a: 2000 lux. b: 500 lux. c: 50 lux. d: 5 lux. All × 100.

いといえよう。5 lux 以上では照度がますにつれて生長が促進されるが照度と生長度との関係は直線的でなく，この曲線からみて 2000 lux 近辺で生長の度合が最高に達するようである。この傾向は 15 日目も 30 日目もかわりがない。

水平方向の生長を 20 個体について測定した結果 (Fig. 2, b) は，やはり垂直的生長の場合と傾向においてはかわりがない。 30 日間培養したものでは測定が困難であつた。

海水濃度の影響: ふつうの海水を 1 として，だいたい 2，1，$\frac{1}{2}$，$\frac{1}{8}$ 倍に濃縮および稀釈した海水で糸状体を培養し，塩分濃度が生長におよぼす影響をみた。稀釈度と塩分濃度，滲透圧との関係は Table 1 に示す。培養は 20°C の電気定温器中で行い，照明は外扉を開いて定温器の外からガラスの内扉をへだてて昼光色螢光燈の光をあたえ，照度が培養用の角型小バットの外側で 500 lux になるように容器内に貝殻をたてかけて培養した。

Table 1. Chlorosity (g/l, 20°C) and osmotic pressure (atm. 20°C) of different concentrations of sea water employed.

Conc.	2.0	1.0	0.5	0.125
Chlorosity	39.9	21.9	11.6	2.8
Osmotic pressure	52.1	31.0	13.3	3.9

播種は 2 月 19 日に行つたが，播種直後の塩分濃度の影響をさけて，23 日になつてからはじめて各濃度の海水にうつして実験をはじめた。サンプリングは播種してから 15 日目，30 日目の 2 回である。

塩分濃度がことなる海水中での糸状体の垂直的方向の伸長は，対照（1 倍）の場合がもつともよく，$\frac{1}{2}$倍で伸長がおち 2 倍，$\frac{1}{8}$ 倍では極端にわるくなつている (Fig. 3, a)。高塩分側の傾向は測定数が少いので破線であらわした。

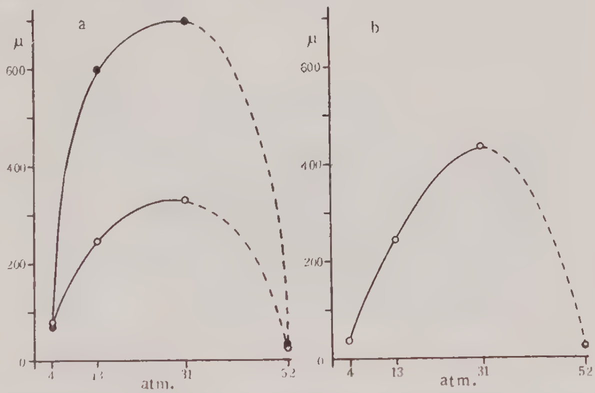


Fig. 3. Effects of sea water concentration on the growth of filaments (20°C, 500 lux). a: growth for vertical direction, b: for horizontal direction. —○— cultured 15 days, —●— 30 days.

15 日目の結果において，2，$\frac{1}{8}$ 倍でやや伸長がみられているのは，各濃度にうつすまえの伸長があらわれているものとみられる。15 日以後 30 日までの間には，このような極端な高濃度および低濃度では，伸長はまつたくおさえられている。

15 日間の水平方向の生長を表面観察から測定したところ，やはり同じ傾向がみられた (Fig. 3, b)。ただ $\frac{1}{2}$ 倍の場合，同じ 15 日間の垂直方向の場合より生長がわるいようである。

考　　察

この実験のはんいでは，糸状体の垂直的生長も水平方向の生長も，ほぼ 2000 lux の照度で最高に達する

ようである。ノリ葉体の場合は6000 lux で生長が最高に達するという報告[6]があるから，糸状体の場合はこれにくらべてかなり低い照度で充分であると思われる。この結果は糸状体が直射日光に弱いという結果[1)3)]とよく一致している。

糸状体は低塩分に弱いといわれているが，この実験においては $\frac{1}{2}$ 倍海水中の生長は対照にくらべてかなり悪くなるにしても致命的ではないようである。もちろん 2, $\frac{1}{8}$ 倍というような高塩分および低塩分になると，ほとんど生長しない。

同じ $\frac{1}{2}$ 倍海水中の生長を水平方向の場合と，垂直方向の場合とをくらべると，前者の伸長がわるい傾向がみられるが，これは水平方向の枝は表面に近いため，稀釈の影響をうけやすいからとも考えられる。

一般的にいつて，垂直と水平の両方面における糸状体の伸長が各要因によつてうける影響は，その傾向において大差がみられない。

要　　約

1. 糸状体の生長と培養期間との関係，および生長におよぼす光，塩分濃度等の影響を主として垂直的方向の生長を対象にしてしらべた。
2. 条件がほぼ一定ならば，糸状体の垂直的生長は，培養日数にだいたい比例して直線的である。
3. 垂直的生長は，2000 lux で最高に達し，5 lux 以下では生長しない。この傾向は水平的生長でも同じである。
4. 垂直的生長は，高塩分，および低塩分いずれの場合も生長がおさえられる。$\frac{1}{2}$ 倍ではかなり生長が悪くなり，2倍，$\frac{1}{8}$ 倍では極端に生長がおさえられる。水平方向の生長でもほぼ同じ傾向である。

論文を見て頂いた九大・瀬川博士，激励下さつた京大・米田博士にあつく御礼申しあげる。

文　　献

1) 黒木・平野: 東北水研研究報告，No. 4 (1955).
2) ——・——: ————————, No. 8 (1956).
3) 竹内・下中・福原・山崎: 本誌，**22**, 16 (1956).
4) 斎藤雄之助: 本誌，**22**, 21 (1956).
5) 山崎・下中・福原: 本誌，**23**, 195 (1957).
6) 木下・寺本: 本誌，**24**. 326 (1958).
7) OGATA, E.: *Bot. Mag. Tokyo*, **72**, 177 (1959).
8) 尾形英二: 本誌，**25**, 356 (1959).

衝撃による網糸の引張試験

近 藤 仁

(1959 年 11 月 19 日受理)

THE IMPACT TENSILE TEST OF THE NETTING CORD

Yasushi KONDO*

The object of this study is to measure tension of the netting cord by impact test using strain gauge. The netting cords composed of short fibers and of endless filaments were used.

The results obtained were as follows:

1) The breaking strength of the netting cord obtained by impact test is constant independent with the impact force. Regarding to the short fibers cord, breaking strength obtained by impact test are larger than those obtained by static test, respectively. For the endless filaments cord, it is whether same tendency or the formers are smaller than the latters.

2) The breaking elongation obtained by impact test are smaller than those obtained by static test.

3) The breaking energy of the short fibers cord obtained by impact test are larger than those obtained by static test. For the endless filaments cord, it is whether same tendency or the formers are smaller than the latters.

緒 言

網糸の強さは一般に緩かに引張られるときの破断張力で表わされる。しかし網糸は急激に引張られると，案外たやすく切れる場合のあることは，日常経験することである。このことのみからしても，静かな荷重に対する耐性から直ちに衝撃に対する耐性を類推することは，無理であるように思われる。

網糸の衝撃による引張りに関する研究は，田内[1]および近藤[2]によつて繰返し衝撃につき，清水[3]，本多[4]および永田[5]によつて単一衝撃について行われた。これらの研究は，網糸が衝撃によつて切断される場合に費される仕事量を対象としたもので，これと緩かに引張られたときの破断張力[6]との関係を与えるに至らなかつた。

本研究では，衝撃によつて引張られた網糸の破断時の張力の測定を行い，前記の諸研究で行われなかつた点を補うことを主とし，さらに関係ある二，三の事項について実験を行つた。

実 験 方 法

網糸に衝撃を作用させるには，振子型衝撃試験機を用いた。この試験機は清水[3]および本多[4]が用いたものと同じものであるが，附加重錘は 4.25kg および 8.25kg の二種類とし，振り降し角度は 5° より 70° の間の 12 点について実験を行つた。

この試験機は，振り上り角度を示す桿が，振子と一緒に運動する構造となつている。この振り上り角度指示桿の止め爪の抵抗にさからつて振子は運動せねばならぬので，このために費される仕事量は，この試験機の重要な機差である。この機差は実測して，各測定値を補正した。また張力測定のために網糸に検出装置を装着した場合は，このために費される量を補正した。これらのほか振子の軸における摩擦抵抗や，振子の空気抵抗等は非常に小さいので，ないものとして取扱つた。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish. Minato-ku, Tokyo, Japan).

衝撃によつて網糸に生ずる張力の測定には，電気抵抗線歪計を用いた。この検出装置は著者等が作成した既報[7]のものを用い，電磁オシログラフを用いて，電流の変化を撮影した。一般に検出装置の固有振動数は現象周波数の 10 倍以上あるのが良いとされているが，岡崎[8]は 100 倍以上あることが望ましいと発表した。この検出装置の固有振動数は，約 1000 サイクルであるのに対し，網糸の破断現象は最も長いもので 12/100sec，短かいもので 2/100sec であるから測定上の不都合はないものと考えた。

実験に用いた網糸は，綿糸 20'S 3/15，ラミー 10'S 片子2本，クレモナ 20'S 3/15，アミラン 210 D 3/6 および 3/12 を用い，試料の長さは 50cm とし，乾時および 24 時間水道の水に浸漬した湿潤状態の糸について実験した。

実験結果および考察

（1） 衝撃によつて網糸に生ずる張力

a. 衝撃力の影響： 質量 m の錘をつけた振子をある角度から振り降すと，振子が0度を通るときの速さは

$$v=\sqrt{2gh}\frac{1}{\sqrt{1+\dfrac{I}{Ml^2}}}$$

衝撃力の強さは mv である。

種々の大きさの衝撃力を，綿網糸に与えた場合に生ずる張力を測定した結果を Fig. 1 に示す。

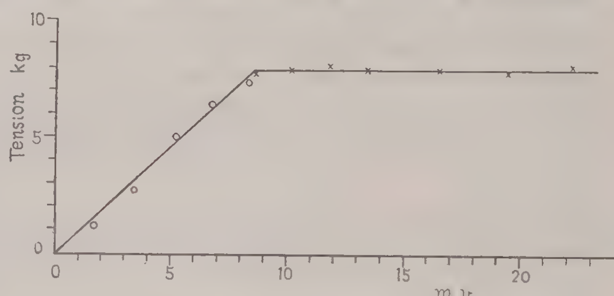


Fig. 1. Relation between impact force and tension of netting cord (cotton, 20'S 3/15, dry).
Note; ×: the cords ruptured
○: the cords not ruptured

網糸が破断しない程度の衝撃では，網糸に生ずる張力はおおよそ $T=0.93\,mv$ である。mv が 8～9 では破断するものと，破断せぬものとがあるが，9 以上では総ての網糸が破断する。このときの網糸の張力は 7.9kg であり，mv に関係なく，常に一定である。

b. 各種網糸の張力： 網糸の材料が異る場合，例えば長繊維を撚り合せたものと，短繊維を紡いで網糸としたものとでは，破断の機構が異るので，衝撃による引張を受けた時に異つた性質を表わすであろうと想像される。衝撃によつて引張られて破断する時に，網糸に加わる張力を測定した結果を Table 1 に示す。

Table 1. Strength and elongation of various netting cords obtained by impact and static test.

Test piece			Static Test			Impact Test			Relative Value		
Name of Cord	Number of hank and yarn	Dry or Wet	Breaking strength T_s (kg)	Elongation ε_s (%)	Energy E_s (kg·m)	Breaking strength T_i (kg)	Elongation ε_i (%)	Energy E_i (kg·m)	T_i/T_s	$\varepsilon_i/\varepsilon_s$	E_i/E_s
Cotton	20'S 3/15	D	7.5	29	0.27	7.9	27	0.38	1.06	0.93	1.40
		W	8.3	39	0.30	8.9	—	0.46	1.08	-	1.54
Ramie	10'S 1/2	D	7.2	8	0.15	7.1	7	0.10	0.99	0.88	0.67
		W	8.8	9	0.18	9.0	—	0.12	1.02	—	0.67
Cremona	20'S 3/15	D	11.3	28	0.45	12.6	25	0.46	1.12	0.89	1.02
		W	9.5	34	0.35	10.8	—	0.59	1.14	-	1.68
Amilan	210D 3/6	D	7.1	31	0.49	6.5	—	0.39	0.92	—	0.80
		W	6.1	31	0.39	5.6	—	0.46	0.92	—	1.18
	210D 3/12	D	13.2	32	1.12	13.5	17	0.73	1.02	0.53	0.65
		W	12.0	31	0.79	12.1	—	0.79	1.00	—	1.00

短繊維を紡いだ綿およびクレモナの網糸は，緩やかに引張られて破断するときの張力よりも衝撃による場合の方がやや大きい。このような結果が生じたのは，緩やかな引張では繊維相互のズリヌケが起り，繊維個有の切断張力の総和よりはるかに小さい張力で網糸は破断するが[9),10)]，衝撃による引張では作用が短時間であるため，ズリヌケる余裕がなく，繊維自体切断するものが多少増加するためであろう。

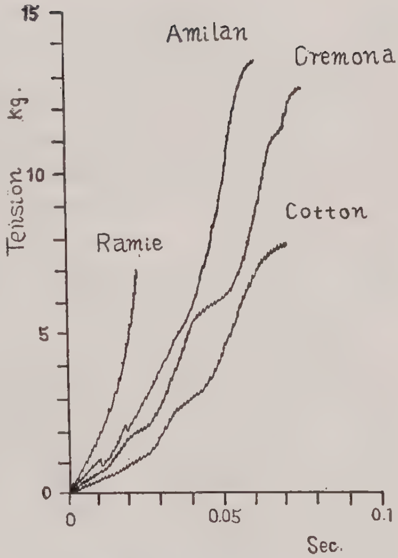


Fig. 2. An example of records obtained by oscillograph.

Fig. 2 は衝撃による網糸の破断現象を，オシログラフの記録から転写したものである。この図によると綿糸，クレモナの網糸では，張力が階段的に増している。このような現象は緩やかな引張による強伸度曲線では見られないことであり，短繊維網糸を衝撃的に引張つた場合にのみ見られる傾向である。これは張力の増加，糸の直径の縮み（このために生ずる伸び）が不連続的に繰返されるためであつて，このため繊維相互間のズレは普通の場合よりも起りにくいと思われる。

無限長と見ることのできる長繊維のアミラン網糸では，緩やかな引張でも，衝撃による引張でも，繊維自体の切断によつて網糸が破断することに変りがないので，両者の破断張力に大差のないことは想像できる。しかし繊維は元来，線方向に対する引張に対しては強いが，振りに対してはあまり強くない性質がある。衝撃による引張では，長繊維網糸は充分伸びることができず，したがつて緩やかな引張の場合よりも若干大きい振り角で，繊維が引張られることとなるので，衝撃の場合の張力がやや小さくなるのであろう。ラミー網糸はアミラン網糸に似た傾向を示したが，この実験に用いた糸の繊維の長さは約 10cm であつたので，細い供試糸では長繊維と同じような働きをするためである。

網糸の乾，湿に依る張力の差異は，緩やかな引張の場合と同じ傾向であつた。

（2） 衝撃によつて網糸に生ずる伸び

網糸の衝撃による破断時の伸びを測定することは困難であり，また測定してもあまり精度を期待することはできない。しかし伸びは網糸の重要な性質であるので，本実験ではつぎのようにして測定した。

振子型衝撃試験機で網糸を試験する場合，振子が網糸を引張つて反対側に振り上り，r_b 度に至つて網糸が破断するが，振子はなお振り上りつづけ r で停る。r_0 から r_b に達するに要する時間は，Fig. 2 のごとく前項の測定に附随して総て記録された。ここではさらに別の検出装置を併用して，r_0 と r_b の間の角度 $r_1, r_2, \cdots\cdots r_n$ を振子が通過するに要する時間を記録させた。Fig. 3 はこの測定により得られた到達所要時間と，その時の振り上り角との関係を簡単に書いたものである。

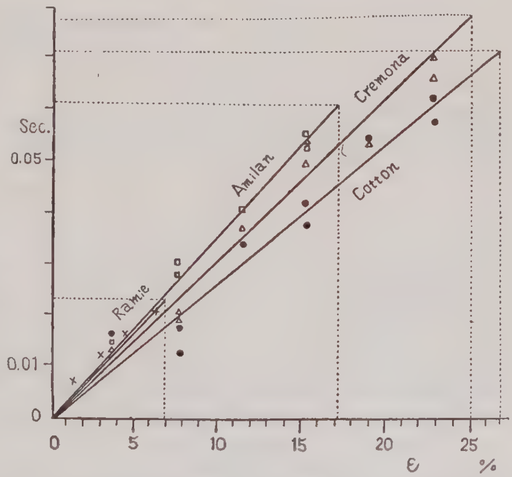


Fig. 3. Elongation of netting cord obtained by impact test.

Fig. 3 の図上に網糸の破断所要時間をとると，破断時の振り上り角 r_b を得る。r_b におけるチャック間の距離を測ることにより，破断時の網糸の長さを知ることができる。その結果は Table 1 に示す。

表からわかるごとく，短繊維でできている網糸の伸びは衝撃による引張の場合の方が，やや少い程度であるが，アミラン網糸の伸びはかなり少い。このことは前項で述べたと同じ理由によるものと思われる。

(3) 衝撃による破断仕事量

a. 衝撃速度の影響: 網糸を単一衝撃で破断する場合，消費される仕事量は，衝撃速度によつて変るか否かについては，清水および永田は衝撃速度の影響は無いとし，本多は学生の行つた実験資料を取纒めた結果，速度が大きい程破断仕事量は増すと報告した。辻[11]は繊維につき，山田[12]は鋼について研究した結果，常用の衝撃試験機の速度の範囲内では，衝撃速度の影響はないと考へて差し支えないと述べている。

綿糸 20′S 3/15 の網糸を用いて，数種の衝撃速度について，破断仕事量および張力を測定した結果を Table 2 に示す。この表によると衝撃速度の影響は明瞭ではない。

Table 2. Influence of impact velocity on cotton netting cord (20′S 3/15).

Starting angle	V m/sec	Tension (kg)		Energy (kg·m)	
		Dry	Wet	Dry	Wet
40	1.35	7.9	8.9	0.39	0.49
50	1.66	7.9	8.5	0.44	0.50
60	1.96	7.6	9.0	0.38	0.44
70	2.27	8.1	9.1	0.32	0.43

b. 各種網糸の破断仕事量: 各種網糸が衝撃により破断するまでに費される仕事量は Table 1 に示す。綿糸およびクレモナの網糸は，一般に衝撃による引張の場合の方が大きい。ラミーおよびアミランの網糸は反対に衝撃による引張の場合の方が小さいものが多い。

また乾いた網糸よりも湿つた網糸の方が，衝撃による破断仕事量は大きい。これと衝撃による破断張力の値とを併せ考えると，合成繊維の網糸では湿つた網糸の伸びが，乾いた網糸のそれに比して，割合大きいことが予想される。

要　　　約

現在一般に広く使用されている網糸の中で，短繊維で作られているもので綿糸，クレモナ．長繊維で作られているものでアラミン，両者の中間的なものとしてラミーを選定し，電気抵抗線を併用して，振子型衝撃試験機を用いて実験を行つた。その結果はつぎのごとくである。

1) 破断する場合の網糸の張力は，衝撃力に関係なく一定であり，その張力の大きさは，緩やかな引張の場合に比し，短繊維の網糸では大きく，長繊維は小さい。

2) 破断するときの網糸の伸びは，衝撃による引張の場合の方が少い。

3) 衝撃による破断仕事量は，緩やかな引張の場合に比して，短繊維の網糸は一般に大きく，長繊維の網糸は小さい。

4) ラミー網糸は，短繊維よりも長繊維に似た性質を示した。

本研究を行うに当り，懇切な御指導を賜わつた，東京水産大学名誉教授田内森三郎博士，東京工業大学草間秀俊博士に深謝申し上げるとともに，実験を援助して下さつた東京水産大学鈴木誠氏，試験網糸を提供下さつた日本漁網船具株式会社に，謹んで謝意を表します。

参　考　文　献

1) 田内森三郎: 水講試報，**23**，**26**，184 (1927).
2) 近藤　仁: 本誌，**5**，171 (1937).
3) 清水房雄: 本誌，**6**，243 (1938).
4) K. HONDA: J. Tokyo University of Fisheries, **38**, 63 (1951).
5) T. NAGATA: 〃 〃 **40**, 75 (1953).
6) 草間秀俊・加藤重遠: 水産研究誌，**32**，123 (1937).
7) 草間秀俊・近藤　仁・鈴木　誠: 本誌，**21**，973 (1956).
8) 岡崎　登: 日本機械学会誌，**61**，1451 (1958).
9) 田内森三郎: 水講試報，**25**，31 (1929).
10) J. M. MATHEW: Textile Fibre.
11) 辻　和一郎: 材料試験，**1**，49 (1952).
12) 山田良之助: 実験工学講座 I，共立社，東京.

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化の原因について—I.

漁況の経年変化について

中 込 淳

(1959 年 12 月 5 日受理)

ON THE CAUSE OF ANNUAL VARIATION OF FISHING CONDITION OF BIGEYED TUNA IN THE AREA FROM MARSHALL ISLANDS TO PALMYRA ISLAND—I.

ON THE ANNUAL VARIATION OF FISHING CONDITION

Jun NAKAGOME*

The author studied on the annual variation of fishing condition of bigeyed tuna of an area of the Pacific Ocean spreading from Marshall Islands to Palmyra Island.

The rate-of-catch (catch number per one hundred hooks) of bigeyed tuna in that area was considerably high in 1952, declined in 1953, declined a little in 1954 and 1955, declined very much in 1956, increased very much in 1957, increased a little in 1958 and again declined a great deal in 1959 (Fig. 1).

緒 言

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化は，藪田・行縄が報告したように，1955 年まではほとんど変化がみられなかつた[1)]。しかし，1956 年以降は，年により，かなりの好，不漁の差のみられることが業者より報告されたので，同海域のメバチの漁況経年変化を調べたところ，その変化が明らかとなつたので報告する。

発表を許され御指導御べんたつ下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長，御指導下さつたミラー・フリーマン社日本駐在員酒井謙二氏に対し，衷心より謝意を表する。

資料および方法

資料は，三崎入港船については神奈川県水試，東京，焼津入港船については南海区水研がしゆう集したもののうち，マーシャル，パルミラ諸島周辺漁場の中央にある 5～15° N, 160～180° W の海域のものを抽出して用いた (Table 1)。

Table 1. Investigated voyage number.

	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959
Jan.	—	11	1	4	16	6	15	34
Feb.	—	8	1	12	10	5	31	50
Mar.	—	7	5	20	3	10	47	44
Apr.	6	7	12	9	1	2	23	5
May	7	1	2	3	1	3	13	2
June	7	3	4	7	1	—	5	1
July	7	—	3	4	1	—	1	1
Aug.	9	6	1	5	2	4	7	—
Sep.	4	3	4	9	4	9	6	—
Oct.	4	7	4	6	3	—	12	—
Nov.	3	3	—	3	1	3	2	—
Dec.	9	—	1	2	1	4	10	—

漁況は釣獲率（鈎 100 本当りの漁獲尾数）で表わし，年，月毎に算出したものを，好漁期 1～6 月が中央になる

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa).

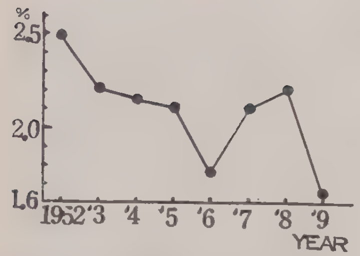


Fig. 1. Annual variation of fishing condition of bigeyed tuna in the area of lat. 5～20°N, long. 160～180°W.

ように前年の 10 月からその年の 9 月まで平均して用いた。

結果および考察

結果は Fig. 1 に示す。

すなわち，この海域として初めて操業された 1952 年はきわめて高率であつたが，1953 年に釣獲率 2.21 にまで低下し，後 1955 年まではわずかずつ低下したが，1956 年には著しく低下し，1957 年にもとに戻り，1958 年にわずかに上昇した後，1959 年には，再び著しく低下した。

摘　　要

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化について調べたところ，つぎのような結果が得られた。

同海域のメバチの漁獲率は，1952 年には高率，1953 年に低下，1954，1955 年はわずかに低下，1956 年に著しく低下，1957 年に著しく上昇，1958 年にはわずかに上昇し，1959 年には再び著しく低下した。

文　　献

1) 藪田洋一・行縄茂理： マグロ延縄漁業平年漁況図，p. 286, 1959.

マーシャル・パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化の原因について—II

漁期および漁場の，好漁年と不漁年との間の比較および漁況と漁獲努力量との関係

中 込 淳

(1958年12月5日受理)

ON THE CAUSE OF ANNUAL VARIATION OF FISHING CONDITION OF BIGEYED TUNA IN THE AREA FROM MARSHALL ISLANDS TO PALMYRA ISLAND—II.

COMPARISON BETWEEN 1956 AND 1958 IN REGARD TO FISHING PERIOD AND FISHING GROUND AND RELATION BETWEEN FISHING CONDITION AND FISHING EFFORT

Jun Nakagome*

The author made a comparison between the fishing period and fishing ground of bigeyed tuna in the area from Marshall Islands to Palmyra Island of 1956 (poor catch year) and that of 1958 (high catch year), and studied on the relation between the fishing condition and the number of fishing gear used.

1) The rate-of-catch (catch number per one hundred hooks) from December of 1957 to March of 1958 was higher than that of 1955～'56. Namely, good fishing of 1958 was brought by higher rate-of-catch in December-March of 1957～'58 (Fig. 1-A).

2) Good fishing of 1957～'58 was brought forth also by use of more fishing gear in December-March of 1957～'58 year than in the months of 1955～'56 (Fig. 1-B).

3) Rate-of-catch by latitude and by longitude in 1958 were higher than those in 1956. But no specific inclination by latitude and longitude is noticeable in the distribution of the rate-of-catch of 1958. Namely, good fishing of 1958 was brought forth by higher rate-of-catch in the whole area (Figs. 3 and 4-A).

4) Good fishing of 1958 was hardly influenced by any specific inclination in the number of fishing gear used (Figs. 3 and 4-B).

5) Accordingly it is presumed that the annual variation of the fishing condition was brought about by variation of the rate-of-catch of the whole area, particularly at best fishing season, though it might have been somewhat affected by some inclination in the catch effort.

緒 言

[illegible]

[illegible]が得られたので報告する。

[illegible]

* 神奈川県水産試験場 Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa.

資料および方法

資料は，三崎入港船については神奈川県水試，東京，焼津入港船については南海区水研がしゆう集したもののうち，マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチ系群の一漁場範囲と考えられる 0~20°N, 170°E ~150°W の海域[1)2)]，および不漁年である 1956 年，好漁年である 1958 年[3)] に属するものを抽出して用い，漁期の比較においては 5~20°N, 160~180°W の海域の月毎の平均釣獲率（漁況；鈎 100 本当りの漁獲尾数）と鈎数（漁獲努力量）を算出し，漁場の比較においては，緯度 2°，経度 5° に区切つた区画別に釣獲率と鈎数を算出し，緯度の比較の場合は各区画を経度間で，経度の比較の場合は緯度間で平均（釣獲率については）または合計（鈎数については）した。

結果および考察

釣獲率の経月変化を 1956 年（不漁年）と 1958 年（好漁年）との間で比較すると，Fig. 1–A に示すように，12~3 月は 1958 年が 1956 年より高率で著しい差がみられ，その他の月の差は極めて小さい。すなわち，1958 年の好漁（平均釣獲率の高率）は 12~3 月の釣獲率の上昇によりもたらされたと考えられる。

また，鈎数の経月変化を 1956 年と 1958 年との間で比較すると，Fig. 1–B に示すように，2, 3 月は 1958 年が 1956 年より鈎数が多く著しい差がみられ，その他の月の差はきわめて小さい。そこで，釣獲率の経月変化の差と鈎数の経月変化の差とを比較すると，釣獲率の差の大きい月に鈎数の差が大きいので，1958年の好漁は，釣獲率が上昇した 2, 3 月の漁獲努力量の増加によつてももたらされたものと考えられる。

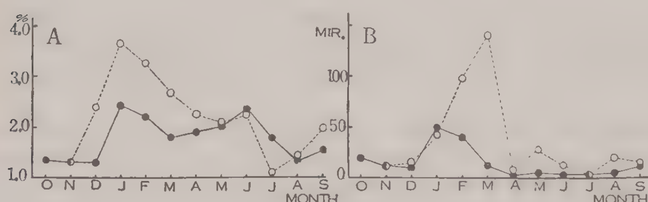


Fig. 1. Monthly variation of rate-of-catch of bigeyed tuna (A) and that of number of hook (B) from October to September in 1955~'56 and 1957~'58.
——●—— from October in 1955 to September in 1956
- - -○- - - from October in 1957 to September in 1958

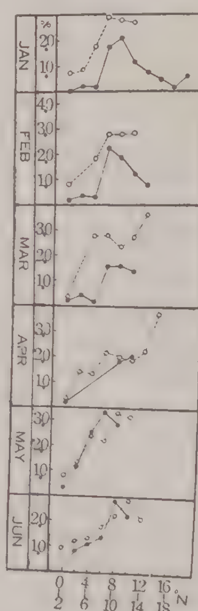


Fig. 2. Rate-of-catch of bigeyed tuna by lat. 2° in each month from January to June in the area of lat. 0~20°N, long. 170°E~150°W.
——●—— 1956
- - -○- - - 1958

つぎに，1956, 1958 の両年とも釣獲率の高い 1~6 月の緯度別釣獲率を，両者の間で比較すると，Fig. 2 に示すように，1~3 月は 1958 年が 1956 年より高率で著しい差がみられ，4~6 月の差はきわめて小さく，また，1~3 月の緯度別釣獲率の 1956 年と 1958 年との差は緯度全体にみられ，1958 年の好漁は，12~3 月の緯度全体にわたる釣獲率の上昇によりもたらされたものと考えられ，1958 年 1~3 月の漁場の南限の南下は，釣獲率の緯度全体にわたる上昇のためと考えられる。

また，1956 年と 1958 年との間で鈎数に著しい差のみられる 2, 3 月の緯度別鈎数を，1956 年と 1958 年との間で比較すると，Fig.3–Bに示すように，1956, 1958 の両年とも 6~12°N の海域に鈎数が多く，0~6°N の海域には少い。したがつて，釣獲率，鈎数の両者とも絶対値は 1956 年と 1958 年の間に変化がみられるが，緯度に対する偏りの差はみられず，緯度に関しては，漁場分布が 1958 年の好漁におよぼした影響はきわめて小さいものと考えられる。

つぎに，1956 年，1958 年の両年とも釣獲率の高い 1~6 月のうち，資料が比較的多くて，かつ東西に偏

在していない1～3月，かつ，釣獲率，鈎数の両者とも数値の高い 6～12°N の経度別釣獲率を，1956 年と 1958 年との間で比較すると，Fig. 4–A に示すようになる。すなわち1～3月のどの月も，経度全体にわたつて1958 年が 1956 年より高率であり，したがつて 1958 年の好漁は，経度全体にわたる釣獲率の上昇によりもたらされたものと考えられる。

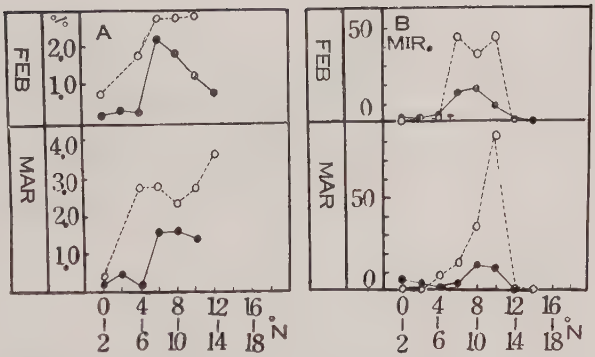


Fig. 3. Rate-of-catch of bigeyed tuna (A) and the number of hooks used (B) by lat. 2° in February and March in the area of lat. 0～20°N, long. 170°E ～150°W.
——●—— 1956 ---○--- 1958

また，釣獲率と同様，1～3 月についての経度別鈎数を 1956 年と 1958 年との間で比較すると，Fig. 4–B に示すようになる。すなわち 1958 年 1～3 月の各月の経度別鈎数が，170～175°W の海域に最も多く，同経度から東西に離れるにしたがつて少くなつているのに対し，1956 年は，1，2 月に 160～170°W の海域に多かつた鈎数が 3 月に移るにしたがい次第に少くなり，3 月には 2 月に多くなり始めた 175°E～175°W の海域の鈎数が多くなつている。したがつて，経度別釣獲率が東よりに高率であり，1958年 2 月の 170～175°W の海域の釣獲率は同月の 165～170°W の海域の釣獲率よりやや高いが，概して漁獲努力量が 1958 年の好漁におよぼした影響はきわめて小さいものと考えられる。

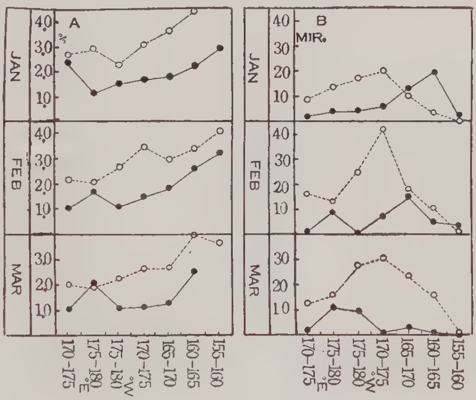


Fig. 4. Rate-of-catch of bigeyed tuna (A) and the number of hooks used (B) by long. 5° in each month from January to March in the area of lat. 6～12°N, long. 170°E～155°W.
——●—— 1956 ---○--- 1958

摘　　要

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの 1956 年の漁期，漁場と 1958 年の漁期，漁場との比較，および，漁況と漁獲努力量との関係について調べたところ，つぎのような結果を得た。

1) 1958 年における 12～3 月の各月の釣獲率は，1956 年におけるそれらより高い。すなわち，1958 年の好漁は，12～3 月の釣獲率が高かつたことによりもたらされたものである。

2) 1958 年の好漁は，2～3 月の漁獲努力量が大きかつたことにも影響された。

3) 1958 年における緯度別，経度別釣獲率は 1956 年におけるそれらよりも高いが，その釣獲率の緯度，または経度に対する偏りの差はみられない。

4) 1958 年の好漁は，漁獲努力量の漁場的偏りによつてはほとんど影響されなかつた。

5) したがつて，釣獲率の経年変化は，漁獲努力量により多少影響されたが，最盛期における，そして海域全体にわたる釣獲率の上昇，低下によりもたらされたものと推定される。

文　　献

1) 中込　淳： 本誌，**24**，8，1958.
2) 行縄茂理： 南海区水研報告，8，1958.
3) 中込　淳： 本誌，**26**，4，1960.

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化の原因について—III.

漁況の周年，経年変化と漁場における表面水温の周年，経年変化との関係

中　込　　淳

(1959 年 12 月 5 日受理)

ON THE CAUSE OF ANNUAL VARIATION OF FISHING CONDITION OF BIGEYED TUNA IN THE AREA FROM MARSHALL ISLANDS TO PALMYRA ISLAND—III.

RELATION BETWEEN MONTHLY AND ANNUAL VARIATIONS OF FISHING CONDITION AND THOSE OF SURFACE WATER TEMPERATURE OF THE FISHING GROUND

Jun Nakagome*

The author studied on the direct relation between monthly and annual variations of fishing condition of bigeyed tuna and those of surface water temperature in the area of lat. 5～15°N, and long. 160～180°W.

1) The surface water temperature in average by month was low (26～27°C) in the first half of a year and was high (28～29°C) in the latter half (Fig. 1).

2) The rate-of-catch (catch number per one hundred hooks) was high in the period (the first half of year) when the surface water temperature was low (Fig. 1).

3) The rate-of-catch and the surface water temperature vary annually, however, the direct relation between them could not be seen (Fig. 2).

緒　　言

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化をもたらす原因を究明するために，漁況の周年変化と，漁場における表面水温の周年，経年変化との関係を調べたところ，興味ある現象を発見したので報告する。

発表を許され，御指導，御べんたつ下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長，並びに御指導下さつたミラー・フリーマン社日本駐在員酒井謙二氏に対し，衷心より謝意を表する。

資料および方法

漁況および表面水温の資料は，三崎入港船については神奈川県水試，東京，焼津入港船について南海区水研がしゆう集し，神奈川県水試が整理したもののうち，マーシャル，パルミラ諸島周辺漁場の中央にある 5～15°N, 160～180°W の海域のものを抽出して用いた。

漁況の周年変化においては月毎に算出した釣獲率（約 100 本当りの漁獲尾数），経年変化においては既報告[1]を引用し，表面水温の周年変化においては各船の平均水温を月毎に平均し，経年変化においてはそれを更に年毎に平均して用いた。

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa).

結果および考察

漁況の周年変化は Fig. 1 に示すように，緯度 5° 別に示した既報告[2)]と同様，年の前半である 12～6 月に釣獲率が高く，年の後半である 7～11 月に低い。また，同じ海域の表面水温の周年変化は，Fig. 1 に破線で示すように，年の前半に 26～27°C を示して低く，年の後半に 28～29°C を示して高い。

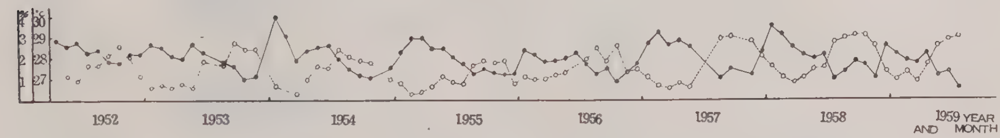


Fig. 1. Monthly variation of fishing condition of bigeyed tuna and that of surface water temperature in the area of lat. 5～15°N, long. 160～180°W.
——●—— rate-of-catch　　- - -○- - - surface water temperature

すなわち，漁況の周年変化と表面水温の周年変化を比較すると，水温の低い時期に釣獲率が高く，水温の高い時期に釣獲率が低く，極めて密接な関係がみられる。

そこで，経年変化についても同様の比較を行うと，Fig. 2 に示すように，表面水温の低い 1955 年は釣獲率が高く，表面水温の高い 1956 年と 1959 年は釣獲率が低いが，その他の年は表面水温の高い年に釣獲率も高く，直接的には，比例，逆比例のいずれの関係もみられない。

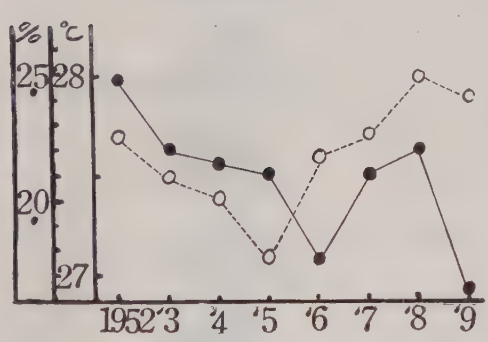


Fig. 2. Annual variation of fishing condition of bigeyed tuna and that of surface water temperature in the area of lat. 5～15°N, long. 160～180°W.
——●—— rate-of-catch
- - -○- - - surface water temperature

摘　　要

5～15°N, 160～180°W の海域におけるメバチの漁況の周年，経年度変化と，同海域の表面水温の周年，経年変化との関係について調べたところ，つぎのような結果が得られた。

1) 表面水温の周年変化は，年の前半に 26～27°C を示して低く，年の後半に 28～29°C を示して高い。

2) 漁況の周年変化と表面水温の周年変化との間には密接な関係がみられ，表面水温の低い時期に釣獲率が高く，表面水温の高い時期に釣獲率が低い。

3) 漁況の経年変化と表面水温の経年変化との間には，直接的な関係はみられない。

文　　献

1) 中込　淳: 本誌，**26**，4，1960.
2) 中込　淳: 本誌，**24**，8，1958.

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化の原因について—IV.

体長組成および年令組成の経年変化と漁況経年変化との関係

中　込　淳

(1959 年 12 月 5 日受理)

ON THE CAUSE OF ANNUAL VARIATION OF FISHING CONDITION OF BIGEYED TUNA IN THE AREA FROM MARSHALL ISLANDS TO PALMYRA ISLAND—IV.

RELATION BETWEEN ANNUAL VARIATION OF RATE-OF-CATCH AND THAT OF BODY-LENGTH OR OF AGE FREQUENCY

Jun NAKAGOME*

The author studied if there should be any relation between annual variation of rate-of-catch and that of body-length or of age frequency.

1) Annual variation of rate-of-catch did not relate directly with that of body-length frequency.

2) Annual variation of age frequency had a relation with that of rate-of-catch. It is presumed that the latter was based on the former, especially appearance of a dominant age group.

緒　　言

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化と漁場の表面水温の経年変化との間には，直接的関係はみられなかった[1]。そこで，体長組成および年令組成の経年変化と漁況経年変化との関係について調べたところ，興味ある結果が得られたので報告する。

発表を許され，御指導，御べんたつ下さった神奈川県水産試験場木井三八場長並びに御指導下さったミツー・フリーマン社酒井謙二氏に対し，衷心より謝意を表する。

資料および方法

資料は，三崎入港船については神奈川県水試，東京，焼津入港船については南海区水研がしゅう集したもののうち，マーシャル，パルミラ諸島周辺漁場の中央にある 5～15°N, 160～180°W の海域に属するものを抽出して用いた。

漁況は釣獲率（鈎100本当りの漁獲尾数）で表わし，経年変化は既報告[2]を引用し，体長組成は，漁況と同様好漁期を中心にした前年の 10 月からその年の 9 月までを通算，一階級 10cm の組成として表わし，体長別漁獲指数は体長組成の各級の百分率にその年の釣獲率を乗じて表わした。

結果および考察

釣獲率および体長組成の経年変化は Fig. 1 に示す。すなわち，釣獲率が，1952～'53 年に著しく低下，

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa).

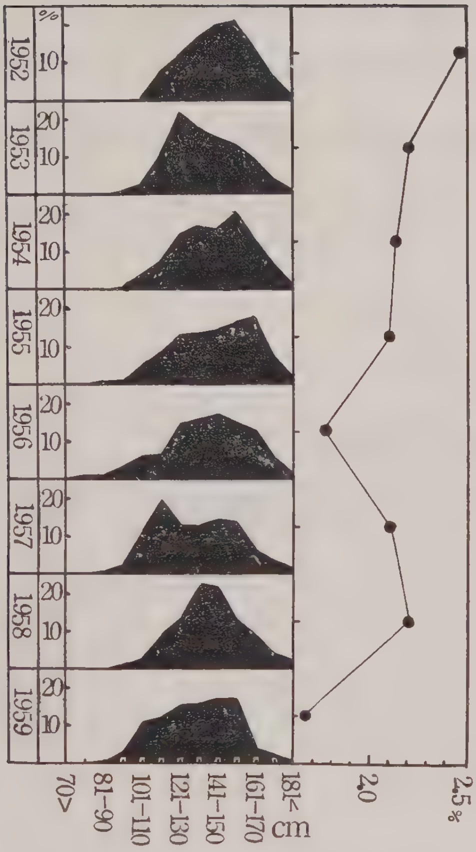


Fig. 1. Annual variations of rate-of-catch and body-length.

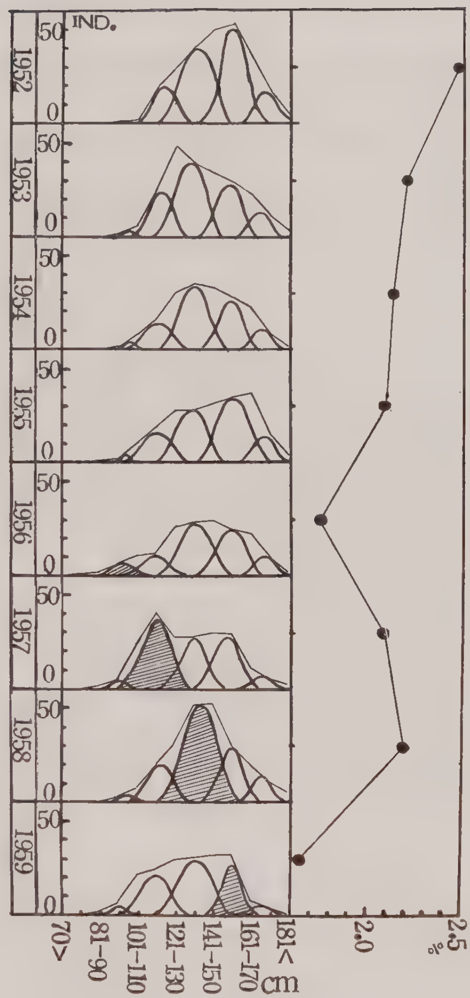


Fig. 2. Annual variations of rate-of-catch and age frequency.
▨ : dominant group

1953～1955 年に緩に低下，1955～'56 年に著しく低下した後，1956～'57 年に著しく上昇，1957～'58 年にわずかに上昇し，1958～'59 年に急激に低下しているのに対し，体長組成は，1953～1955 年に次第に大型が増え，1955～1957 年に次第に小型が増えた後，1957～1959 年に再び大型が増え，6 年周期の周期的変化をしているようにうかがえる。したがつて，釣獲率の経年変化と体長組成の経年変化との間には，周年変化にみられるような直接的関係[3]はみられない。

つぎに，体長別漁獲指数（体長組成における各階級の百分率×釣獲率）の経年変化を図示すると，Fig. 2 の細線のようになる。しかるに，メバチの年令と体長との関係は，ほぼ 3 才魚が 91～100 cm，4 才魚が 111～120 cm，5 才魚が 131～140 cm，6 才魚が 151～160 cm の付近にモードをもつ可能性が考えられる[4]。そこで，この推定が正しいものと仮定して，各年の体長別漁獲指数を年令組成に分析すると，Fig. 2 の太線のようになる。

この年令組成の経年変化と釣獲率の経年変化との関係をみると，Fig. 2 に示すように，卓越年令群が組成の大部分を占めた時釣獲率が高く，卓越年令群の出現が釣獲率の経年変化をひきおこすものと考えられる。

摘　　　要

体長組成および年令組成の経年変化と釣獲率の経年変化との関係について調べたところ，つぎのような結果が得られた。

1）釣獲率の経年変化と体長組成の経年変化との間には，周年変化にみられるような直接的関係[3]はみられない。

2）年令組成の経年変化と釣獲率の経年変化との間には関係がみられ，卓越年令群の出現が釣獲率の経年変化をひきおこすものと推定される。

文　　　献

1）中込　淳：本誌，**26**，4，1960.
2）中込　淳：本誌，**26**，4，1960.
3）中込　淳：本誌，**24**，8，1958.
4）須田　明・辰喜恭五郎・宇都正己：マグロ延縄漁業平年漁況図，p. 79，1959.

水産動物肝臓中の脂肪酸について—I.
臭素化法による不飽和脂肪酸の定量

東　秀雄・新間弥一郎・田口脩子

(1959 年 11 月 30 日受理)

STUDIES ON THE FATTY ACIDS IN MARINE ANIMAL LIVERS—I. QUANTITATIVE ANALYSIS OF UNSATURATED FATTY ACID BROMIDES.

Hideo HIGASHI, Yaichiro SHIMMA and Hisako TAGUCHI*

Many studies on the fatty acids of the marine animal livers have been done usually by the distillation of fatty acid esters extracted from high oil content livers. However, little effort has been made for quantitative determination of unsaturated fatty acids in low oil content livers. Kinds of animals used for the present study include bluefin tuna, bigeyed tuna, Indian tuna, Skipjack, fur-seal and fin whale. Free fatty acid and oil were extracted from the livers which had been minced and stored at about −10°C for 1～2 months. By saponifying the liver oil, mixed fatty acid which had formed glycerid and esters with vitamin A, sterol and other unsaponifiable alcohols, were separated from other components. In order to differentiate two groups of fatty acids, the authors propose to call the former "free type of fatty acids" (FFA) and the latter "ester type of fatty acids" (EFA). On each of the two types of fatty acids, iodine value and neutralisation value were determined (Table 3). Each of them was treated with lead acetate in 95 % alcohol, and separated into solid acid (SA) and liquid acid (LA). After brominated, the latter was separated into four fractions: oleic, linoleic, linolenic and arachidonic acid fractions, by making use of difference of solubility for petrol ether, ether and chloroform (Tables 2 and 4).

The results of our experiments were as follows

1. During a long storage, glycerid was destroyed by the lipase in the tissues, but esters of unsaponifiable matters seemed to be hardly attacked by the enzyme (Table 1 and Fig. 1). Then in low oil content livers such as under report, unsaponifiable contents in the extracted oils ran up to 30～50 % (Table 3).

2. In those fish livers, SA content has been found 22～27 % in EFA and 24.2～35.5 % in FFA. The sum of SA and oleic acid was 61～76 %. Between the two types of FA, percentage of each other unsturated FA was almost the same. Accordingly it may be concluded that a greater portion of FA which forms esters with such unsaponifiable matters as vitamin A and sterols must be composed of oleic acid and SA likewise in glycerid (Table 4).

3. In fin whale, SA was found 41.4 % in FFA and 15.1 % in EFA, whereas in a specimen of fur-seal (B) it was 20.2 %～16.5 % in each type of FA. But the constitution percentages of unsaturated FA of the marine mammals were similar to those of fishes, with the sum of SA and oleic acid being also 61～76 %. However, the fur-seal (A) had an embryo and exceptionally low content of highly unsaturated FA. Some kinds of vitamins in the liver of fur-seal (A) and (B) were determined (Table 5).

緒　　言

種々の魚類肝油中の脂肪酸については辻本・外山・土屋らによる研究を始め多くの報告がなされている

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Rab. Chūō-ku, Tokyo, Japan).
東海区水産研究所業績B第 327 号

が，従来の研究は主に含油量の高い肝臓から得られた肝油を試料としてその中に含まれる脂肪酸を分離あるいは確認することに重点を置いて行われた。その実験方法としては混合脂肪酸から金属石鹸として飽和酸あるいは高度不飽和酸を分離し，これをエステル化後分溜して各溜分について沃素価，鹸化価を測定して不飽和度および炭素数を求めるという方法が慣用されてきた。

このような研究の結果によれば，肝油中の飽和酸は例えばマグロ肝油 31%[1]，サバヒイ肝油 27%[2]，オヒョウ肝油 24%[3]，その他 Cod, Hake, Dog fish, Skate などでは大体 20～12%[4]であり，またC数は 16 のパルミチン酸がその主なものでミリスチン酸，ステアリン酸がこれにつぎ，C_{14} 以下の酸および C_{18} 以上の酸は存在しても微量である。また不飽和酸としては C_{18}, C_{20} の酸が最も多く，C_{16}, C_{22} 酸がそれにつぎ，C_{14} および C_{24} 酸は非常に少い。個々の酸としては二重結合 2～6 ケを有するものが種々分離確認されているが従来の実験法の多くは蒸溜によつて脂肪酸を分離したのでC数の相違による脂肪酸組成に重点が置かれた。

また肝油の季節的あるいは年令的変化については多くの報告があるが，その脂肪酸特に不飽和酸の組成に関する報告は少い。最近座間ら[5]は鮭肝油の脂肪酸を分析して産卵期の前後における各種脂肪酸の増減を観察しているが各種不飽和酸の割合についてはほとんどふれていない。魚類肝臓は陸上哺乳動物に比して著るしく多量の脂質を含むことが多く，したがつてその不飽和酸量もかなり異つているであろう。

著者らは肝臓中における脂肪酸の生化学的重要性はC数よりむしろその不飽和性にあると考え臭素化法による不飽和酸の分離定量を試みた。

また肝油中には不鹸化物としてステロール以外にビタミンAや種々のアルコールが存在するがこれらはほとんど脂肪酸とエステルを形成している。そしてこのエステル型の脂肪酸は飽和酸であるか，不飽和酸であるか，あるいは両者がどのような割合で混在するかも興味深い点であるが，僅かにビタミンAについてパルミテートが分離された報告[6]があるにすぎない。

著者らは肝臓中における脂肪酸の生化学的意義を研究するに当り比較的含油量の低いマグロ，バチ，インドマグロ，カツオ，ナガスクジラ，オットセイなどの水産動物肝臓から脂質を抽出し飽和酸および各種不飽和酸の割合を求めた結果，脂質中の脂肪酸組成および不鹸化物とエステルを構成する脂肪酸の組成について 2，3 の知見が得られたので報告する。

実　　　験

1) 試　　料

輸送中に著るしく鮮度の低下したビンナガ肝臓から脂質を抽出したが，きわめて高い酸価を示したので遊離の脂肪酸を分離した。脱酸後の抽出油をアルミナクロマトにかけ[7]，クロマト前後の不鹸化物量および

Table 1. ビンナガ肝臓中脂質分析結果
Lipids in *Albacore* liver

	Weight		Vitamin A	
	Content in liver	Yield	Potency in oil	Yield
	%	%	$\times 10^4$ I.U.	%
エーテル抽出脂質 (AV 153) Lipids extracted with ether	8.45	—	5.47	—
遊離型脂酸 FFA	6.30	—	—	—
抽出油 Ext. oil (excepting FFA)	2.08	100	21.6	100
抽出油中の不鹸化物 Unsap. mat. of ext. oil	—	63.8	32.5	96.0
抽出油弱化アルミナクロマト流下部分 Chromatographic fraction, eluted with petrol ether	—	69.0 (100)	26.5	84.7
流下部分中の不鹸化物 Unsap. mat. of the fraction	—	38.1 (55.2)	45.3	80.0

V. A. 単位を求めた (Table 1, Fig. 1)。この結果，抽出油は著るしく多くの不鹸化物を含み，その一部はクロマトにより吸着されるが大半は吸着されず特に V. A の 85%は流下することから脂肪酸とエステルを形成していると思われる。従来報告されたところによれば肝臓リパーゼはグリセリッドの分解が遅く一価のアルコールの脂肪酸エステルを速やかに分解すると述べられている[8]。しかし魚類肝臓ではグリセリッドは脂肪酸に分解されても V. A のようなアルコールと脂肪酸とのエステルは分解をうけ難いように思われる。したがつてこのようにして得られた不鹸化物含量の高い抽出油中の脂肪酸は主に不鹸化物とエステルを形成している脂肪酸であり，グリセリッドを形成する脂肪酸は含まれていても僅かであろう。

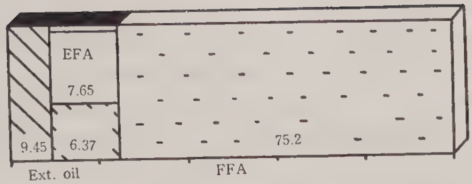


Fig. 1. ビンナガ肝臓中の遊離型脂酸と抽出油との割合
Weight % of extracted oil and free fatty acid in *Albacore* liver.
抽出油中の不鹸化物 Unsap. mat. of ext. oil
クロマト流下部分中の不鹸化物 Ester form, passed through the chromat. column
クロマトで吸着される部分 Free form, adsorbed on the column

そこで冷凍保存した数種の低含油量肝臓から脂質を抽出し，脱酸処理によつて遊離の脂肪酸を抽出油から分離し，前者を**遊離型脂酸** (**FFA**)，後者を鹸化して得られる脂肪酸を**エステル型脂酸** (**EFA**) と呼び，それぞれの脂肪酸組成を検討した。

抽　出　肝臓 400 g をチョッパーにかけ水 200 cc，サステン 0.2 g を加え混和する。この混和物を冷蔵庫 (−10°C) 中に保存すればグリセリッドは分解して酸価は増大する。脂質を抽出するには，酵素製剤 (スミターゼ 4,000 森本) 1.6 g を添加し 40°～50° C，60 分ゆるやかに攪拌する。消化終れば温度をあげ，80°C に達してからさらに5分間加熱し，エキス分を吸引沪別する。圧搾した肝臓実質を 30 分加温吸引して水分を溜去した後，ベンゾール (Bz.) 600 cc を加え 30 分間沸騰攪拌しつつ脂質を抽出する (Fig. 2)。この時 Bz. から分離する水分 (Aq) を除く，3回抽出を繰返し抽出 Bz. 溶液を集め 50% MeOH 250 cc NaOH 水溶液 (1+1.4 Aq) 6～10 cc を加え振盪，フェノールフタレンが赤色を呈することを確かめる。下層を分離後，さらに 40% MeOH 150 cc 宛で2回洗滌し脱酸を完了する。Bz. を溜去すればエステル型脂酸を含む抽出油を得る。洗滌液は酸性とした後 Bz.で抽出し，遊離型脂酸を得る。

抽出油はアルコール性苛性カリを以て鹸化した後，エーテルで不鹸化物を抽出する。分離した石鹸層は酸性とした後分離する脂肪酸をエーテルで抽出し，エーテルを脱水溜去すればエステル型脂酸を得る。

魚類肝臓においては数尾～数十尾の肝臓から抽出した試料について実験したが，オットセイでは2頭の肝臓から別々に抽出し (A), (B) と区別した。

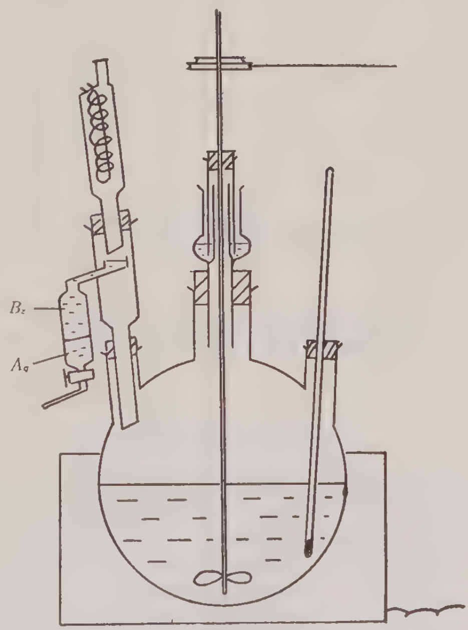


Fig. 2.

2)　脂肪酸の分離定量

飽和酸の分離　2～5 g の試料を精秤し，鉛塩アルコール法により固体酸および液体酸を分離し，両酸の合計を 100 として各酸の割合を求めた。また両酸につき中和価 N.V. および沃素価 I. V. を測定した。

沃素価は臭化ピリヂン法によつた。

不飽和酸の分離（臭素化法）　混合不飽和酸を臭素化し，臭化物の溶剤に対する溶解度の差を利用して二重結合 1, 2, 3, および 4 以上の 4 部分に定量的に分離する方法として三浦[9]・馬嶋[10]の報告があるが，魚類肝臓は陸上動物に比して一般に含油量が多く，試料を容易に多量に入手し得ること，また本研究においては個体差を考えず専ら魚種による相違を知ろうとしたので微量定量法の必要を認めなかつた。さらに著者らは操作が簡単であることを望んだので，つぎのごとき秤量法を以て定量した。すなわち不飽和酸約 1〜2 g を精秤し，30 cc の乾燥エーテルに溶解し，−10°C の冷却室中で 10 分間放置後 2〜4.5 g の Br を 1 滴宛振盪しながらフラスコ壁に添い注加する。この時始めの半量は少くとも 20 分間に入れ残りの半量は 10 分間位で入れ終る。注加する Br の色が褪色しなくなればそのまま 2 時間冷却室中に保つ。析出せる臭化物はガラスフィルター (3 G. 4) で沪過し沈澱の乾燥せぬように注意しながら −10°C に冷却したエーテル 5 cc 宛を以て 3 回洗滌する。洗滌終ればよく吸引し 60°C 減圧下に 20 分乾燥しエーテル不溶多臭化物 (II) を得る。沪液および洗液は酸性亜硫酸ソーダ溶液で過剰の Br を除き，水洗後脱水してエーテルを減圧溜去しエーテル可溶臭化物 (I) を得る。

エーテル可溶臭化物 (I) の分別　約 0.2 g (I) を精秤し石油エーテル 20 cc を加え 10 分間加温した後 −20°C のフリーザー中に一夜放冷する。沈澱はフリーザー中でガラスフィルター (51 G. 3) で沪別後予め冷却した石油エーテル 5 cc 宛を以て 2 回洗滌する。沪液および洗液を併せ，溶剤を溜去してオレイン酸 2 臭化物 (I・1) を得る。最初に秤量した試料との重量差をリノール酸 4 臭化物 (I・2) とした。

エーテル不溶臭化物 (II) の分別　約 0.2 g (II) を精秤しクロロホルム 20 cc を加え 10 分間加温した後室温 (18°C) に一夜放冷する。沈澱をガラスフィルター (51 G. 3) で沪別後脱水クロロホルム 5 cc 宛を以て 2 回洗滌する。沪液および洗液を併せ溶剤を溜去してリノレン酸 6 臭化物 (II・1) を得る。秤取した試料との重量差をアラヒドン酸多臭化物 (II・2) とした。

3) **計算法**　4 区分に分離された臭化物の重量からそれぞれの不飽和酸量を求めるには次式を用いた。

モノエチレン酸（オレイン酸として）＝(I・1)×0.6382

ヂエチレン酸　（リノール酸として）＝(I・2)×0.4667

Table 2. 液体酸の分別実験例（マグロ肝臓の遊離型脂酸）
Separation of LA bromide (FFA in *Bluefin tuna* liver)

No.	採取試料 Sample	重量 Weight g	(%)	分別せる臭化物重量 Wt. of separated bromides: エーテル可溶臭化物 Ether soluble bromide (I) g	(%)	エーテル不溶臭化物 Ether insoluble bromide (II) g	(%)
2.1	液 体 酸 LA	1.058	(100)	1.530	(144.7)	0.822	(77.7)
2.2	(I) Treated with petrol ether	0.2782	(100)	Soluble (I–1) 0.1930	(69.4)		
				Insoluble (I–2) 0.0852	(30.6)		
2.3	(II) Trated with chloroform	0.2597	(100)			Soluble (II–1) 0.1390	(53.6)
						Insoluble (II–2) 0.1207	(46.4)

No.		Monoenoic (I–1)	Dienoic (I–2)	Trienoic (II–1)	Polyenoic (II–2)
2.4	不飽和酸 Unsaturated FA				
2.5	液体酸に対する臭化物の重量比 Wt % of separated bromides for LA	100.2	44.5	41.6	36.1
2.6	脂肪酸をもとめる係数 Factors: FA/Bromide	0.6382	0.4667	0.3670	0.3000
2.7	液体酸に対する各脂肪酸の重量比 Wt % of unsat. FA for LA	64.0	20.8	15.3	10.8
2.8	混合脂肪酸に対する重量比 Wt % for FFA	43.7	14.2	10.5	7.4

トリエチレン酸（リノレン酸として）＝(II・1) ×0.3670

テトラエン酸およびそれ以上の高度不飽和酸（アラヒドン酸として）＝(II・2) ×0.3000

この計算により得られる脂肪酸量の総和は 100 になるはずであるが実際には常に 100 より多く沃素価大なる試料ほど差が大となる。例えば Table 2 にマグロ肝臓中の遊離型脂酸について実験した結果を示したが，この場合にも不飽和酸量の合計は 110.9 となる。したがつて例えば遊離型脂酸中のオレイン酸量を求めるには次式による。

$$\text{オレイン酸量} = \frac{\text{液体酸中のオレイン酸量 } 64.0 \times \text{液体酸含量 } 75.8\%}{\text{各不飽和酸の計算値合計 } 110.9} = 43.7\%$$

その他の酸についても同様の計算を行い，Table 2 の (2・8) の結果が得られた。

実験結果および考察

魚類肝臓（マグロ，バチ，インドマグロ，カツオ）および水産哺乳動物肝臓（ナガスクジラ，オットセイ）

Table 3. 水産動物肝臓中の遊離型，エステル型脂酸量および各脂肪酸の中和価，沃素価
Yields and properties of FA in marine animal livers

魚種 Kind of animal	脂肪酸の種類 Type of FA (VA potency in oil)	収量 Yield %	混合脂肪酸 Mixed fatty acid 中和価 N.V.	沃素価 I.V.	固体酸 SA N.V.	I.V.	液体酸 LA N.V.	I.V.
マグロ *Bluefin tuna*	遊離型脂酸 FFA	7.23	179.0	—	214.4	6.89	179	193.7
	抽出油 Ext. oil (3.0×10⁴ I.U./g)	9.39						
	不鹸化物 Unsap. mat.	17.4						
	エステル型脂酸 EFA	70.4	188.8	126.2	203.6	9.74	198.5	183.3
バチ *Big-eyed tuna*	FFA	4.33	195.0	159.0	226	10.9	195	204.1
	Ext. oil (16.3×10⁴ I.U./g)	3.16						
	Unsap. mat.	43.3						
	EFA	44.4	202.0	—	233	22.3	199	194.0
インドマグロ *Indian tuna*	FFA	3.2	187	141.5	227	6.40	203.5	212
	Ext. oil (68.8×10⁴ I.U./g)	4.69						
	Unsap. mat.	39.8						
	EFA	53.8	195	136.0	212	11.3	189.5	176
カツオ *Skipjack*	FFA	3.76	200	163.2	210	4.05	179	228
	Ext. oil (21.8×10⁴ I.U./g)	2.00						
	Unsap. mat.	30.7						
	EFA	58.6	187	164.0	204	12.6	192	205
ナガスクジラ *Fin whale*	FFA	1.49	201	139.9	206	8.51	180	188.5
	Ext. oil (33.9×10⁴ I.U./g)	1.87						
	Unsap. mat.	53.1	(28.1%)*					
	EFA	44.6	194	180	211	12.38	183.5	202.3
オットセイ *Fur-seal* (A)	FFA	—	—	—	—	—	—	—
	Ext. oil (1.14×10⁴ I.U./g)	2.23						
	Unsap. mat.	43.3						
	EFA	39.8	194	145	202.5	27.5	174	170
オットセイ *Fur-seal* (B)	FFA	2.69	186	159.7	204.4	5.5	189	178.5
	Ext. oli (2.33×10⁴ I.U./g)	2.72						
	Unsap. mat.	31.1	(38.9%)*					
	EFA	59.6	182	144.2	204.4	7.7	171	176.5

* (Sterol content in unsaponifiable matter)

について遊離型およびエステル型脂酸を抽出し，その収量およびそれから分離した固体酸および液体酸の中和価,沃素価を測定し,その結果を Table 3 に示した。すなわち全脂質の中でグリセリッドの分解によつて生じたと思われる遊離型脂酸の割合はいずれも著るしく多い。また抽出油中の不鹸化物含量は高くカツオ，オットセイ（B）30%，バチ，インドマグロ，オットセイ（A）40%，ナガスクジラ 50% である。しかし他の試料に比して含油量の多いマグロでは不鹸化物含量はなお 16.6% に留まり多量のグリセリッドを残し

Table 4. 水産動物肝臓中の脂肪酸の分析結果
Separations of the mixed FA in marine animal livers

魚種 Kind of animal	脂肪酸の種類 Type of FA	鉛塩・アルコール法 Leadsalt separation: 試料 Mixed FA	固体酸 SA	液体酸 LA	臭素化法による液体酸の分離 Separations of LA bromides: 試料 LA	Ether soluble bromide (I)	I-1	I-2	Ether insol. bromide (II)	II-1	II-2
		g			g	g			g		
マグロ Bluefin tuna	遊離型脂酸 FFA	5.18	1.16	3.62							
	FA %		24.2	75.8			43.7	14.2		10.5	7.4
	エステル型脂酸 EFA	5.20	1.34	3.71	1.083	1.612			0.758		
	Bromide g					0.244	0.190	(0.054)	0.269	0.152	(0.117)
	FA %		26.6	73.4			48.1	9.94		9.44	5.92
バチ Big-eyed tuna	FFA	3.00	0.747	2.05	1.592	2.308			1.424		
	Bromide g					0.278	0.192	(0.086)	0.223	0.121	(0.102)
	FA %		26.7	73.3			41.5	12.6		11.4	7.8
	EFA	2.03	0.44	1.53	1.198	1.733			0.924		
	Bromide g					0.193	0.140	(0.053)	0.215	0.110	(0.105)
	FA %		22.3	77.7			46.8	12.9		10.1	7.9
インドマグロ Indian tuna	FFA	3.81	1.26	2.29	0.918	1.439			0.812		
	Bromide g					0.189	0.115	(0.074)	0.181	0.101	0.080
	FA %		35.5	64.5			32.8	15.5		9.8	6.4
	EFA	2.76	0.665	1.797	0.899	1.384			0.523		
	Bromide g					0.155	0.119	(0.036)	0.274	0.186	(0.088)
	FA %		27.0	73.0			49.3	10.6		9.5	3.6
カツオ Skipjack	FFA	3.25	0.867	2.104	0.915	1.322			0.925		
	Bromide g					0.197	0.113	(0.084)	0.194	0.121	(0.073)
	FA %		29.2	70.8			32.2	17.5		14.0	7.1
	EFA	2.66	0.656	1.988	0.816	1.202			0.681		
	Bromide g					0.169	0.105	(0.064)	0.194	0.110	(0.084)
	FA %		24.9	84.3			38.8	17.5		11.6	7.2
ナガスクジラ Fin whale	FFA	5.36	1.98	2.80	0.964	1.361			0.751		
	Bromide g					0.233	0.177	(0.056)	0.223	0.123	(0.100)
	FA %		41.4	58.6			36.3	8.4		8.4	5.5
	EFA	2.06	0.34	1.83	0.984	1.457			0.719		
	Bromide g					0.239	0.162	(0.077)	0.182	0.113	(0.069)
	FA %		15.7	84.3			48.5	16.9		12.6	6.3
オットセイ Fur-seal (A)	FFA		—	—			—	—		—	—
	EFA	2.01	0.50	1.55	0.855	1.279			0.513		
	Bromide g					0.252	0.222	0.030	0.159	0.113	0.046
	FA %		24.4	75.6			56.3	5.4		10.4	3.5
オットセイ Fur-seal (B)	FFA	3.03	0.46	2·46	1.657	2.296			1.202		
	Bromide g					0.213	0.155	0.058	0.240	0.132	0.107
	FA %		15.8	84.2			50.3	16.2		8.1	9.6
	EFA	4.41	0.85	3.37	2.030	2.881			1.381		
	Bromide g					0.225	0.156	0.069	0.211	0.104	0.108
	FA %		20.2	79.8			47.3	15.4		9.3	7.8

(記号 I-1, I-2, II-1, II-2 については Table 2 を参照
For notations I-1, I-2, II-1 and II-2 see Table 2)

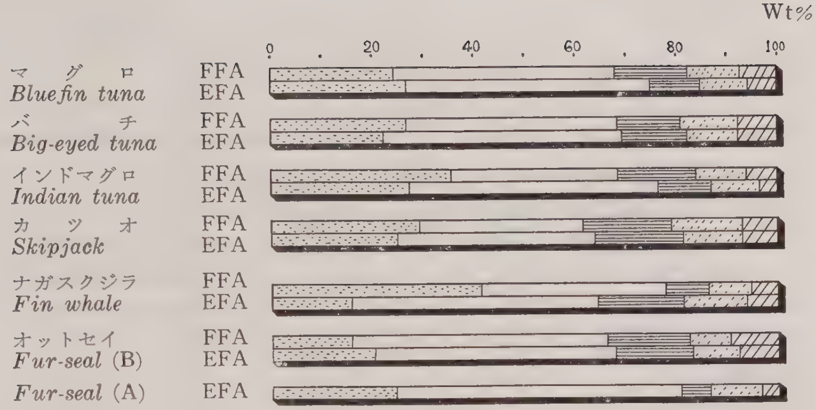


Fig. 3. 水産動物肝臓中の脂肪酸分析結果
Weight percentage of various fatty acids

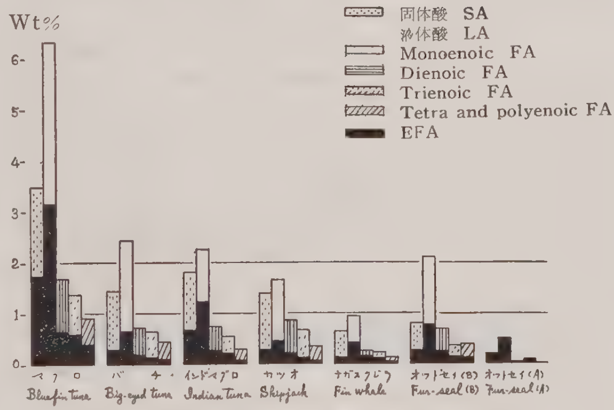


Fig. 4. 水産動物肝臓中の脂肪酸含有
Fatty acid content in marine animal livers

ている。

表に掲げた7種の試料において固体酸の中和価 (202.5～233) はいずれも液体酸の中和価 (174～203.5) より高く，また沃素価は 4.05～27.5 であつたがこの沃素価が不飽和固体酸によるものかどうかは明らかでない。

つぎに液体酸を臭素化法により不飽和度別に分離し，各脂肪酸の割合を求め，その結果を Table 4 に示した。これを図示すれば Fig. 3 となる。また肝臓重量に対する各脂肪酸の含量を求めれば Fig. 4 となる。これらの結果に見るように魚類肝臓と水産哺乳動物肝臓とではかなり相違がある。

1. 魚類肝臓

i) エステル型脂酸中の固体酸は 22～27% であるが，遊離型の固体酸はインドマグロ (33.5%)＞カツオ (29.2%)＞バチ (26.7%)＞マグロ (24.2%) の順となる。これらの魚の正確な漁獲場所はインドマグロ (S 15°, E 102°) 以外は明らかでなく，僅かに水揚港がそれぞれ清水，三崎，気仙沼と知られているにすぎない。しかし遊離型の固体酸量とこれら魚の漁獲水域の水温との間には関係があるように思われるので，さらに多数の試料について検討する必要があろう。

ii) オレイン酸量は魚種により種々異なるが，各試料についてオレイン酸量と固体酸量との和を求めれば 61～76% となり，魚類肝臓中の脂肪酸の大半を占めている。また遊離型とエステル型とではつねにエステル型の方がやや高い値を示している。

iii) リノール酸，リノレン酸，アラヒドン酸 (以下これらを総称して必須脂肪酸と呼ぶこととする) のそれぞれの割合はリノール酸 10～18%＞リノレン酸 9～14%＞アラヒドン酸 8～13% である。実験した魚種の中ではカツオ肝臓が最も多くの必須脂肪酸を含み特にリノール酸が多いことを認めた。

iv) 抽出油中にグリセリッドが多く残つている試料においては両型の脂肪酸の組成割合がきわめて類似するのは当然であるが不鹸化物含量が高くグリセリッド量の少いと思われる場合にも両型の組成割合には大

差がない。したがつて含油量の少い肝臓においては不鹼化物とエステルを形成する脂肪酸は特定の飽和あるいは不飽和酸ではなく，グリセリッドに含まれている脂肪酸とほとんど同じ割合の脂肪酸がエステルを形成していると考えられる。また抽出油中のA単位は3万 I.U.～69万 I.U. で試料によりかなり差があり，インドマグロの場合には不鹼化物の少くも 1/3 はV.Aである。しかしいずれの場合もエステル型脂酸の組成にはほとんど差を認めない。したがつて，V.A のエステルもオレイン酸エステルが最も多く固体酸エステルがこれにつぎ，さらに若干の必須脂肪酸エステルが存在すると考えて良いであろう。

以上の実験結果によれば魚類の低含油量肝臓においてはその脂肪酸の組成割合は魚種によつて大差がなく，i), ii), iii) に述べたような普遍的傾向が存在するように思われる。しかし魚類肝油は季節，漁場，年令などによりその含油量や性状が著るしく変化することが知られており，例えば鰹肝油の沃素価については 114～244[11)12)13)]の報告があり著者らの数値とは甚だしく異る。したがつて脂肪酸の組成についても，さらに季節的，年令的変化を調べ一層検討を重ねる必要があろう。

2. 水産哺乳動物肝臓

ナガスクジラの捕獲時期，漁場などについては不明であるが，オットセイについては捕獲状況および肝臓中のビタミン類についての分析結果があるので Table 5 に示した。クジラおよびオットセイについての実験結果は個々に大きな相違があつて一般的な傾向をとらえることはできなかつた。

Table 5. オットセイ肝臓中のビタミン含量
Biochemical date of *Fur-seals* (A) and (B)

試料 Sample	体長 体重 Size & Wt.	性別 年令 Sex & Age	胎児 Embryo	肝臓重量 Wt. of liver g	肝臓中含油量およびビタミン量 Content of oil and vitamins in liver: 肝油 Liver oil: 含油量 Oil Cont. %	肝油 Liver oil: 酸価 AV	肝油 Liver oil: V.A. potency I.U. in oil	$V.B_1$ γ/g	$V.B_2$ γ/g	$V.B_6$ γ/g	$V.B_{12}$ γ/100g	パントテン酸 Pantothenic acid γ/g	葉酸 Folic acid γ/100 g
A (2128)	135cm kg 39	♀ 10	♂ 35cm 1,270g	1,200	5.15	96.0	5,660	4.5	25	6.8	21	40	210
B (2129)	111cm kg 25.5	♀ 4	None	810	4.77	107.0	15,000	7.3	34	14.0	18	40	230

The sample A was caught at the position 38°47′ N, 142°36′ E and Sample B at 39°59′ N, 142°20′ E both on 15 March 1959.

i) クジラ肝油中の飽和酸についてはすでに，マッコウクジラ 23.9%[11)]，ツチクジラ 39.0%[15)]の報告があるが著者らの試料では総脂肪酸中の固体酸の割合は 27.1% であつた。しかしその中でエステル型はエステル型脂酸の 15.1% に過ぎないが遊離型は遊離型脂酸の 41.4% で著るしく多い。不飽和酸の組成は大体魚類肝臓の場合と似ており著るしい相違はない。

ii) クジラおよびオットセイ（B）において固体酸量とオレイン酸量とを加えた値を求めるとそれぞれ 64～78% 程度となり，魚類の場合と大差がない。

iii) オットセイの（A）と（B）では脂肪酸組成は著るしく異り，エステル型の必須脂肪酸量は（B）33% に対し（A）20% で遥かに少い。また試料（A）では肝臓中のビタミン類の中で A, B_1, B_2, B_6 がいずれも著るしく低いことを認めたが，この相違は（A）が胎児を有していることに起因するのかも知れない。魚類肝臓と比較して試料（B）の結果は固体酸量がやや低い以外は大差がない。また両型の脂肪酸組成もほとんど同じであつた。

3. 実験結果の吟味

Fig. 3, 4 の脂肪酸の組成割合を求める場合に著者らは固体酸量を便宜上そのまま記載したが，実際には

これらの固体酸は飽和酸以外にその沃素価に相当する量の不飽和酸を含有しているわけである。この混在する不飽和酸をオレイン酸と仮定して飽和酸量を求めるとつぎのようになるが固体酸量と大差はない。

	インドマグロ	カツオ	バ　チ	マグロ
遊離型脂酸中の飽和酸量	33.0%	27.1%	23.5%	22.4%

臭素化法により不飽和酸の分離定量を行つた場合に欠点として高度不飽和酸部分がエーテル可溶となり低い値しか得られぬ恐れがある。もし分離し得た脂肪酸の沃素価を2重結合の数に応じて，およそ 90, 180, 270, 400 と仮定し，実験結果から液体酸の沃素価を逆算すると次のようになる。

	マ グ ロ	バ　チ	インドマグロ
遊 離 型 脂 酸	162 (193.7)	167 (204.1)	170 (212)
エステル型脂酸	156 (183.3)	164 (194)	142 (176)

( ) 内実測値

計算値は常に実測値より低くその 0.8～0.85 程度に過ぎない。この点については，アルカリ異性化法により吟味を行ないエーテル可溶部に著量の高度不飽和酸の存在を認めたがその詳細は次報に述べることにする。

摘　　要

比較的含油量の低い魚類肝臓および水産哺乳動物肝臓から遊離型の脂肪酸およびエステル型の脂肪酸を抽出し，これを固体酸および液体酸に分け液体酸は臭素化法によつてさらに不飽和度を異にする4区分に分離してその割合を求めつぎのことを明らかにした。

1. 長期間保存した低含油量肝臓においてはグリセリッドは分解して遊離の脂肪酸となるが，不鹸化物特に V.A の大部分はエステルのまま残り脂肪酸を遊離し難い。

2. 供試試料の魚類肝臓においては

i) 遊離型脂酸中の固体酸の割合はインドマグロ 35.5%＞カツオ 29.2%＞バチ 26.7%＞マグロ 24.2%の順であり棲息環境との間に関係があるように思われる。

ii) エステル型脂酸中の固体酸量は 22～27% で魚種による差が少い。

iii) 各試料の固体酸とオレイン酸との和は 61～76% で魚種による差は比較的少い。

iv) 必須脂肪酸の割合はリノール酸 10～18%，リノレン酸 9～14，アラヒドン酸 8～13% であつた。

v) 遊離型とエステル型の脂肪酸の組成割合には大差がない。したがつて不鹸化物とエステルを形成する脂肪酸はグリセリッドに含まれる脂肪酸とほとんど同じ割合と考えられる。

3. 水産哺乳動物肝臓においては試料による差が大きく一般的傾向は認め難いが

i) 固体酸とオレイン酸との和は 64～78% で魚類の場合に似ている。

ii) 必須脂肪酸の組成割合はクジラおよびオットセイ (B) においては大体魚類の場合と大差はない。

iii) 胎児を有していたオットセイ (A) においては肝臓中の必須脂肪酸量および V.A, B_1, B_2, B_6 の含量が著しく低いことを認めた。

本研究に使用せるオットセイ肝臓は海獣科諸氏の御協力により，そのビタミン群の分析値は村山・簗瀬・山田の諸氏によつて提供された。また臭素化法については馬嶋安正氏に御助言を頂いたことを併せて謹んで感謝する。

文　　献

1) 富山哲夫：本誌，**2**, 1 (1933).
2) 加福均三・畑　忠太：工化，**38**, 1414 (1935).
3) 辻本満丸・木村包介：東工試，**22**, 69 (1927).
4) K. D. GUHA, T. P. HILDITCH, and J. A. LOVERN: B. J. **24**, 266 (1930).
5) 座間宏一・五十嵐久尚：本誌，**19**, 1087 (1954).
6) S. HAMANO: Sc. Pap. I. P. C. R. **26**, 87 (1934).
7) 新間彌一郎・田中　実：本誌，**25**, 52 (1959).
8) C. OPPENHEIMER: "Die Fermente und ihre Wirkungen", Supplement I. N. V. Drukkerij V/h L. E. Bosch & Zoon, Utrecht (1936), p. 78.
9) Kichihei MIURA: J. Biochem, **29**, 467 (1939).
10) 馬嶋安正：生化学，**28**, 383 (1956).
11) 加福均三・池田鉄作・加藤亮三：日化，**54**, 325 (1933).
12) 外山修之・高井英子：油化学，**3**, 269 (1954).
13) 土屋知太郎・金子良平・遠藤拓治：工化，**56**, 350 (1953).
14) 低伯誠通・森高次郎：本誌，**19**, 614 (1953).
15) ――――・――――：〃，**20**, 396 (1954).

マグロ筋肉の脂質—VI.
血合筋および普通筋のスフィンゴ脂質*

片田宗男

(1959年12月15日受理)

LIPIDS OF THE MUSCLE OF TUNA, *THYNNUS ORIENTALIS*—VI.
SPHINGOLIPIDS OF DARK-COLORED AND ORDINARY MUSCLES*

Muneo KATADA**

Sphingolipid preparations obtained from the dark-colored and ordinary muscles of a tuna, *Thynnus orientalis*, respectively gave eight fractions by chromatography on silicic acid eluting with chloroform/methanol.

These were found to be six galactosphingosides (monoacylgalactosylsphingosine), a sphingomyelin (monoacylsphingosylphosphorylcholine), and a lipid having a galactose-sphingosine-nitrogen molar ratio of 1: 1: 2.

著者らは既報[1]においてクロマグロ，*Thynnus orientalis* の血合筋および普通筋のアセトン可溶性脂質の成分，レシチン，ケファリン，ついで，いわゆるケファリン画分中のアミノ燐脂質について報告したが，本報では，スフィンゴ脂質について得た結果を述べる。筋肉中のスフィンゴミエリン，糖脂質については KAUCHER ら[2] の発表したような定量値はあるが，魚類のみならず一般に動物筋肉中のこれらの成分・性状については余り多く知られてはいない。また糖脂質の生理的意義については SZENT-GYÖRGYI[3] が骨格筋の収縮に関係ある旨の興味ある推論を提出しているが，いまだ明かではない。

著者はクロマグロの血合筋および普通筋からスフィンゴ脂質画分を調製し，これを硅酸カラムを用いて溶出クロマトグラフ[4] による分画を行い，それぞれ糖脂質あるいはスフィンゴミエリンと考えられる数種の物質を分離することを得，それらの検討を行つた。

実験および結果

分析法としては，N はミクロケルダール法，P は FISKE・SUBBAROW[5]，グリセリンは BLIX[6]，スフィンゴシンは Mc KIBBIN ら[7]，コリンは GLICK[8]，ヘキソースは RADIN ら[9] の方法をそれぞれ用いた。

試料は既報[1] に記載したものである。

(1) スフィンゴ脂質画分の調製

クロマグロ血合筋 4,000 g および普通筋 5,370 g をそれぞれ室温でアセトン，ついでエタノール，石油エーテルによりくりかえし順次抽出し，真空乾燥して血合筋より 1,130 g，普通筋より 1,260 g の乾燥粉末残渣を得た。これらの残渣をそれぞれ3容の熱エタノールで5回ずつくりかえし抽出し，抽出液を合一して氷室に一夜放置して生じた沈澱を吸引沪過して得た。これらの沈澱の収量は血合筋より 5.47 g，普通筋より 8.81 g であつた。これをクロロホルム/メタノール (2: 1) 混液に溶解，FOLCH ら[10]の方法による washing を2回行い，非透析部として血合筋より 1.38 g，普通筋より 1.07 g の褐色を帯びた固型物を得た。これをクロロホルム/メタノール (2: 1) 少量に溶解，大量のアセトンにより沈澱すること2回，ついで同様にして

* 水産動物燐脂質に関する研究—XX. (Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals—XX).

** 北海道大学水産学部水産化学教室 (Fac. Fish. Hokkaido Univ., Hakodate).

エタノールから2回，エーテルから2回再沈澱を行つてスフィンゴ脂質画分を得た。これらの収量および分析値を Table 1 に示す。

Table 1. Sphingolipid preparations.

Source	Yield		Phosphorus	Nitrogen	Choline	Hexose	Glycerol	Sphingosine
	mg	mg% from fresh tissue	%	%	%	%	%	%
Dark-colored muscle	415.5	10.38	0.60	1.94	2.78	19.30	0	41.49
Ordinary muscle	353.8	6.59	0.63	2.65	2.57	17.12	0	33.56

(2) スフィンゴ脂質の硅酸クロマトグラフによる分画

硅酸（自製[11]せるもの）50g をクロロホルム/メタノール（2: 1）100cc 中に懸濁し，これを直径 2cm のカラムに流し込み，高さ 45cm のカラムを調製した。これを 250cc のクロロホルム/メタノールで，ついで 200cc のクロロホルムで洗つた。このカラムに血合筋のスフィンゴ脂質 310mg を少量のクロロホルム/メタノールに溶解して加え，10cc のクロロホルムを注加した。試料の展開は各種濃度のクロロホルム/メタノールを用いて行つた。すなわち最初はクロロホルムで展開を始め，連続的にメタノールの比を増して最後にメタノールのみになるようにした。このようにして合計 1000cc の展開液を使用，流出液は 20cc ずつ分画して 50 区分を得た。これらの各区分からその一部をとり，ヘキソースと燐酸の定量を行つた。この結果を Fig. 1 に示す。Fig. 1 の結果からみて同一画分と考えられる部分の流出液を合し，溶媒を除去して，含まれる物質を回収した。これらの分析結果を Table 2 に示す。

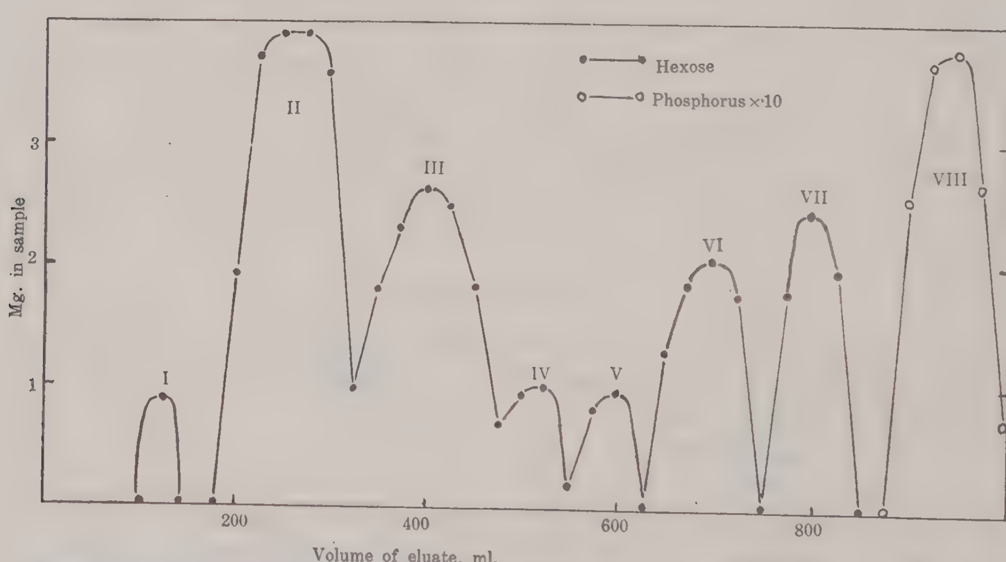


Fig. 1. Chromatographic separation of 310.0mg of a sphingolipid preparation from dark-colored muscle of tuna.

A silicic acid column (2×45cm) and gradient elution with chloroform and methanol were used. Band I was eluted with chloroform containing small amounts of methanol. The concentration of methanol was approaching 100 per cent during the elution of band VIII. Each sample contained 20ml of eluate. The phosphorus values were arbitrarily multiplied by 10 for convenience in plotting.

Table 2. Composition of bands obtained from chromatography of a sphingolipid preparation from dark-colored muscle of tuna on silicic acid.

Component	Band no.							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Phosphorus, %	0	0	0	0	0	0	0	3.52
Nitrogen, %	1.89	1.72	1.60	1.52	2.82	1.60	1.78	3.30
Choline, %	—	0	0	—	—	0	0	14.10
Hexose, %	19.20	21.30	20.82	18.80	18.25	19.96	21.65	0
Sphingosine, %	—	35.31	32.60	—	—	34.77	36.22	40.55
Weight, %	1.6	32.2	21.0	3.9	3.3	13.0	11.6	13.4
N/P, molar ratio	0	0	0	0	0	0	0	2.07
Choline/N, molar ratio	—	0	0	—	—	0	0	0.49
Choline/P, molar ratio	—	0	0	—	—	0	0	1.02
Hexose/N, molar ratio	0.79	0.96	1.01	0.96	0.50	0.97	0.95	0
Sphingosine/N, molar ratio	—	0.96	0.95	—	—	1.02	0.91	0.57
Sphingosine/P, molar ratio	—	0	0	—	—	0	0	1.19

つぎに普通筋から得られたスフィンゴ脂質 268mg を試料として同様にクロマトグラフを行つた。この結果を Fig. 2 および Table 3 に示す。

Table 2 および 3 に示された各画分中，ヘキソースを含むものの加水分解物についてペーパークロマトグラフ[12]により糖類の検索を行つたが，すべての画分についてガラクトースのみが検出され，他の糖はみとめられなかつた。

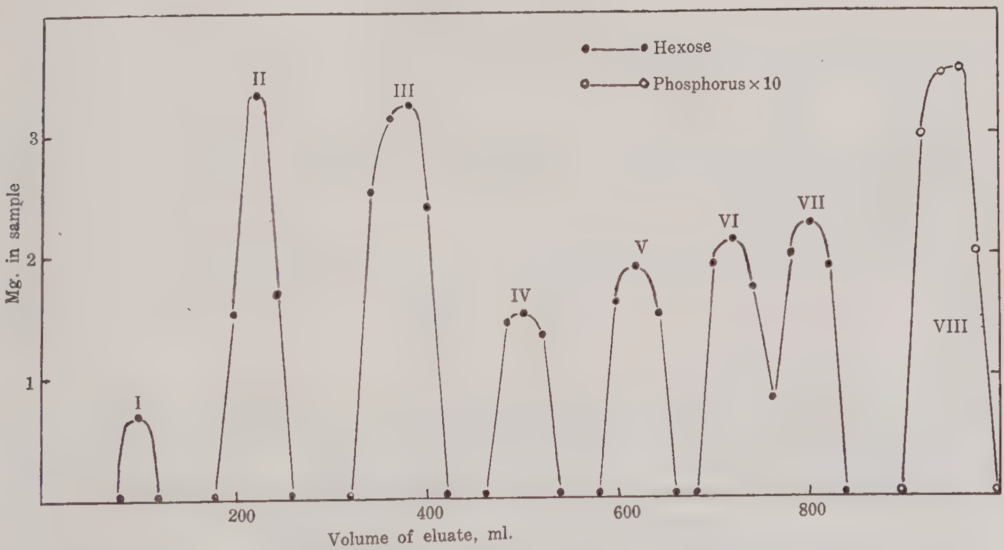


Fig. 2. Chromatographic separation of 268.0mg of a sphingolipid preparation from ordinary muscle of tuna.
Details are the same as described in Fig. 1.

考　　察

Fig. 1 および 2 に示されるように，血合筋および普通筋のスフィンゴ脂質画分はそれぞれ少くとも 8 種の物質からなることが明らかであり，かつそれらの溶出順序も Table 1, 2 によつて知られるように相似し

Table 3. Composition of bands obtained from chromatography of a sphingolipid preparation from ordinary muscle of tuna on silicic acid.

Component	Band no.							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Phosphorus, %	0	0	0	0	0	0	0	3.46
Nitrogen, %	1.62	1.63	1.71	1.59	2.70	1.92	1.80	3.60
Choline, %	—	0	0	—	0	0	0	13.91
Hexose, %	18.21	20.55	20.83	21.20	18.88	17.69	19.99	0
Sphingosine, %	—	34.22	30.55	—	30.68	33.68	38.21	39.86
Weight, %	1.4	13.7	24.3	9.0	10.4	13.6	12.7	14.9
N/P, molar ratio	0	0	0	0	0	0	0	2.13
Choline/N, molar ratio	—	0	0	—	0	0	0	0.45
Choline/P, molar ratio	—	0	0	—	0	0	0	1.03
Hexose/N, molar ratio	0.87	0.98	0.94	1.04	0.54	0.72	0.86	0
Sphingosine/N, molar ratio	—	0.98	0.84	—	0.53	0.82	0.99	0.52
Sphingosine/P, molar ratio	—	0	0	—	0	0	0	1.20

ており，おのおの等しい物質を含有すると考えられる。血合筋および普通筋のスフィンゴ脂質の画分 I，II，III，IV，VI および VII の分析値および分子比はいずれも通常の糖脂質についての理論値に合致し，VIII はスフィンゴミエリンに一致する。これら糖脂質は少量のため脂肪酸を検索することができなかつたが，おそらくは脂肪酸基の部分のみが異る Monoacylgalactosylsphingosine の構造を有する物質と推定される。スフィンゴミエリンも同様に Monoacylsphingosylphosphorylcholine の構造と考えられる。V はスフィンゴシン，ガラクトース，N をそれぞれ 1: 1: 2 の比に含有する物質で，スフィンゴシンの他にもう一種の未検出の含窒素化合物を有することが明らかである。これらは微量のため，さらに検索し得なかつた。

スフィンゴ脂質の収量は血合筋が普通筋よりも幾分高いが，その組成には大差はないもののようである。

要　　約

クロマグロ血合筋および普通筋よりスフィンゴ脂質画分を調製し，硅酸クロマトグラフによつてそれぞれより 8 種の画分を分離した。そのうち 6 種は糖脂質，1 種はスフィンゴミエリン，1 種はガラクトース: N が 1: 2 の糖脂質であつた。

本研究は文部省科学研究費総合研究「水産生物脂質に関する研究」(五十嵐久尚教授) の一部として行つたものであり，終始御指導を賜わつた五十嵐久尚教授および御助言を頂いた座間宏一助教授に謹んで謝意を表する。

文　　献

1) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男: 本誌, **22**, 787, 791; **23**, 273, 278 (1957); **24**, 735 (1959); *Nature*, **181**, 1282 (1958).
2) Kaucher, M., Galbraith, H., Button, V., Williams, H.H.: *Arch. Biochem.*, **3**, 203 (1943).
3) Szent-Györgyi, A.: *Chemistry of Muscular Contraction*, New York (1947).
4) Weiss, B.: *J. Biol. Chem.*, **223**, 523 (1956).
5) Fiske, C. H., Subbarow, Y. C.: *J. Biol. Chem.*, **81**, 629 (1929).
6) Blix, G.: *Mikrochim. Acta*, **1**, 75 (1937).
7) Mc Kibbin, J. M., Taylor, W. E.: *J. Biol. Chem.*, **178**, 29 (1949).
8) Glick, D.: *J. Biol. Chem.*, **156**, 643 (1944).
9) Radin, N. S., Lavin, F. B., Brown, J. R.: *J. Biol. Chem.*, **217**, 789 (1955).
10) Folch, J., Ascoli, I., Lees, M., Meath, J. A., Le Baron, F. N.: *J. Biol. Chem.*, **191**, 833 (1951).
11) Gordon, A. H., Martin, A. J. P., Synge, R. L. M.: *Biochem. J.*, **37**, 79 (1943).
12) Partridge, S. M.: *Biochem. J.*, **42**, 238 (1948).

マグロ筋肉の脂質—VII.

血合筋, 普通筋およびその他の器官における脂質分布*

片田宗男・座間宏一・五十嵐久尚

(1959 年 12 月 15 日受理)

LIPIDS OF THE MUSCLE OF TUNA, *THYNNUS ORIENTALIS*—VII. DISTRIBUTION OF LIPIDS IN DARK-COLORED MUSCLE, ORDINARY MUSCLE, AND SEVERAL OTHER TISSUES*

Muneo KATADA, Kôichi ZAMA and Hisanao IGARASHI**

Distribution of lecithin, phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, acetal lipid, sphingomyelin, cerebroside, and cholesterol in various parts of the dark-colored and ordinary muscles and several other organs of a tuna, *Thynnus orientalis* was determined with the results presented in Table 1 and 2.

In the external parts of dorsal, ventral, and dark-colored muscles, the content of total lipids, iodine numbers of the lipids, and the ratio of total-phospholipids/cholesterol were found to be higher than those of the internal parts.

A similarity in lipid constitution was observed between the internal dark-colored muscle and liver.

著者らはクロマグロ，*Thynnus orientalis* の血合筋および普通筋のおのおのについて脂質成分を精査してきたが[1]，さらに小型クロマグロの普通筋を内層背肉，外層背肉，内層腹肉，外層腹肉，血合筋を内層血合，外層血合のごとく組織的に異る部位にわけ，これらを前・中・後部に分取した 18 区分中の脂質分布を概ねニシンについてさきに報告した方法[2] によつて定量し，これを肝臓，心臓，胃，腸などと比較検討した。その結果，筋肉各部位により脂質分布にかなり顕著な相違があること，内層血合筋が肝臓に似た脂質構成を示すこと，および筋肉の部位と総燐脂質/コレステリン値の関係についてなどの二,三の知見を得たのでここに報告する。

実験および結果

試料には 7 月下旬北海道茅部郡臼尻沖で漁獲された小型のクロマグロ（いわゆるメジあるいは中マグロ）を用いた。これは体長 61 cm，体重 6,750 g，全筋肉 4,500 g，うち血合筋 388 g（血合筋/全筋肉 = 8.6%），内臓重量は肝臓 118 g，心臓 16 g，脾臓 20 g，幽門垂 132 g，腎臓 44 g，胃 72 g，腸 17 g であつた。

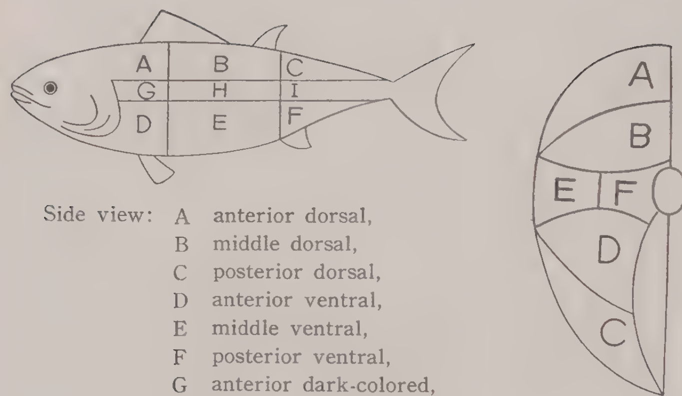
筋肉部は Fig. 1 に示すように，普通筋と血合筋にわけ，普通筋はさらに背部と腹部にわけ，それぞれの内層部と外層部を前・中・後部に分した。

上記の筋肉各部 18 と 7 種の臓器から総脂質を抽出した。抽出法は既報[2] と同様で，組織を磨砕し，6 倍量のアセトンで 3 回抽出し，残渣を真空乾燥してクロロホルム/メタノール (2: 1) で 4 回抽出し，両抽出物を合一，FOLCH ら[3] の washing を 2 回行つて総脂質を得た。これらについて燐脂質，糖脂質などの各成分の定量を行つた。

---

* 水産動物燐脂質に関する研究—XXI. (Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals—XXI).

** 北海道大学水産学部水産化学教室 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate).



Side view: A anterior dorsal,
B middle dorsal,
C posterior dorsal,
D anterior ventral,
E middle ventral,
F posterior ventral,
G anterior dark-colored,
H middle dark-colored,
I posterior dark-colorod.

Sectional view:
A external dorsal,
B internal dorsal,
C external ventral,
D internal ventral,
E external dark-colored,
F internal dark-colored.

Fig. 1. Sampling of muscles.

コリンは GLICK[4] の方法，セリンおよび 2–アミノエタノールは野島ら[5] の方法，スフィンゴシンは McKIBBIN ら[7] の方法，ガラクトースはアンスロンによる比色定量法，沃素価はウィス法によりそれぞれ測定し，既報[2] に記した方法により脂質各成分のモル量を算出し，ついで重量に換算した。これらの結果を Table 1, 2 に示す。

考　　察

普通筋の総脂質含有量は概して前部および中部が後部より高く，また外層が内層より高い。外層の総脂質の沃素価は内層のそれに比しい高い。これらの傾向は露木ら[8] がブリ肉について得た結果とよく一致する。血合筋の総脂質含量は特に普通筋に比して高くはないにもかかわらず，複合脂質各成分の含有量は血合筋の方が著しく高く，沃素価も血合筋の脂質の方が高いことがみとめられる。普通筋では総脂質量の多い部位に複合脂質が多いが必ずしも同一の比例定数をもたず，総脂質の少い内層部の脂質では外層部よりも高い総複合脂質/総脂質の比を有する。このことは血合筋においてもみとめられ，内層血合筋は外層に比して脂質中の複合脂質成分の濃度が高い。また総燐脂質/コレステリン値をみると普通筋の外層部は内層部よりも高く，血合筋の外層がこれにつぎ，これらの下に心臓，肝臓，血合筋内層部，胃の順序にある。これらより考えられることは最も運動性の高いものは外層普通筋であり，内層普通筋は比較的運動性が低く，むしろ外層血合筋の方がより高い運動性をもつことである。心臓についての値は BLOOR[9] の[illegible]についての値 (8) と一致し，胃の値は BLOOR[9], KAUCHER ら[10] の[illegible]についての値 (3～4) に一致する。血合筋内層部の値は骨格[illegible]値 17，[illegible] 14，[illegible] 18[9]) である普通筋より，また胃や心臓より幾分低く，むしろ肝臓に近似している。さらに複合脂質各成分ならびにコレステリンの分布が肝臓に類似していることから，血合筋内層部は骨格筋としてよりもむしろ肝臓様の機能をもつことも推測される。

要　　約

クロマグロの普通筋および血合筋の内・外層の前・中・後部および肝臓，心臓，脾臓，幽門垂，腎臓，胃，腸の脂質各成分を定量した。その結果，普通筋では外層部は内層部より総脂質含量が高く，沃素価も高いこと，総脂質含量の低い部分では脂質中の複合脂質の濃度が高いことなどが認められ，さらに総燐脂質/コレステリン値から，外層部の筋肉は内層部よりも高い運動性を有し，内層血合筋は特に運動性が低く，その脂質分布が肝臓に類似していることから筋肉としてよりも代謝器官としての機能を有することも推測される。

Table 1. Lipid content of the body tissues of tuna (1)
(Expressed in values in Mol. per 100g. of fresh tissue)*

Tissue**		Total lipid, g.	Iodine no. (Wijs)	Lecithin, m. Mol.	Phosphatidyl-ethanolamine, m. Mol.	Phosphatidyl-serine, m. Mol.	Acetal lipid, m. Mol.	Sphingomyelin, m. Mol.	Cerebroside, m. Mol.	Cholesterol, m. Mol.
Dorsal	A, I	3.444	137.9	0.225	0.169	0.134	0.028	0.338	0.216	—
	A, E	8.456	143.2	0.417	0.262	0.165	0.075	0.328	0.316	—
	M, I	3.794	108.7	0.213	0.184	0.122	0.033	0.292	0.209	0.184
	M, E	7.590	109.5	0.427	0.245	0.137	0.050	0.335	0.271	0.187
	P, I	1.952	103.5	0.158	0.135	0.076	0.023	0.219	0.128	—
	P, E	4.112	103.8	0.423	0.175	0.107	0.054	0.320	0.247	—
Ventral	A, I	12.508	153.9	0.761	0.540	0.242	0.092	0.291	0.332	—
	A, E	12.962	165.8	0.823	0.368	0.333	0.125	0.346	0.307	—
	M, I	13.900	147.0	0.824	0.700	0.255	0.096	0.212	0.479	0.333
	M, E	7.754	148.1	0.568	0.280	0.196	0.053	0.106	0.233	0.137
	P, I	1.584	120.5	0.357	0.095	0.095	0.035	0.085	0.164	—
	P, E	2.872	141.0	0.449	0.120	0.126	0.035	0.121	0.258	—
Dark-colored	A, I	4.085	153.7	0.716	0.301	0.540	0.084	0.534	0.299	—
	A, E	11.683	166.6	1.216	0.747	0.643	0.047	0.934	0.579	—
	M, I	5.064	163.6	0.889	0.340	0.315	0.049	0.773	0.471	0.737
	M, E	6.712	164.5	0.771	0.389	0.293	0.038	0.534	0.513	0.449
	P, I	7.078	156.6	0.624	0.489	0.390	0.068	0.688	0.492	—
	P, E	5.636	160.5	0.466	0.243	0.265	0.069	0.402	0.354	—
Liver		7.052	163.4	0.716	0.762	0.455	0.085	0.779	0.407	0.775
Heart		4.652	140.5	0.889	0.340	0.198	0.047	0.695	0.211	0.510
Spleen		3.540	143.7	0.216	0.207	0.085	0.049	0.672	0.924	—
Pyloric appendages		7.631	154.0	0.467	0.417	0.098	0.038	0.685	0.326	—
Kidney		3.828	161.2	0.624	0.310	0.054	0.024	0.500	1.036	—
Stomach		2.798	135.5	0.302	0.155	0.020	0.034	0.591	0.198	0.433
Intestine		2.335	139.1	0.177	0.098	0.024	0.069	0.499	0.205	

* Calculations are as follows:
Lecithin (Mol.) = Choline (Mol.) – Sphingomyelin (Mol.), Phosphatidylethanolamine (Mol.) = 2-aminoethanol (Mol.) – Aldehyde (Mol.), Phosphatidylserine (Mol.) = Serine (Mol.), Acetal lipid (Mol.) = Aldehyde (Mol), Sphingomyelin (Mol.) = Sphingosine (Mol.) – Galactose (Mol.), and Cerebroside (Mol.) = Galactose (Mol.).

** Abbreviations are used as follows:
A, anterior; M, middle; P, posterior; I, internal; E, external.

Table 2. Lipid content of the body tissues of tuna (2)
(Expressed in values in weight per 100 g. of fresh tissue)*

Tissue**		Lecithin, mg.	Phosphatidyl-ethanolamine, mg.	Phosphatidyl-serine, mg.	Acetal lipid, mg.	Sphingomyelin, mg.	Cerebroside, mg.	Cholesterol, mg.	Total phospholipids, mg.	Total phospholipids/cholesterol
Dorsal	A, I	175.1	121.3	102.1	13.0	243.7	175.4	—	655.2	—
	A, E	324.5	188.1	125.7	34.9	236.5	256.7	—	909.7	—
	M, I	165.7	132.1	93.0	15.4	210.5	169.8	71.4	616.7	8.6
	M, E	332.2	175.9	104.4	23.3	241·5	220.1	72.6	877.3	12.1
	P, I	122.9	96.9	57.9	10.7	157.9	104.0	—	446.3	—
	P, E	329.1	125.6	81.5	25.2	230.7	202.2	—	792.1	—
Ventral	A, I	592.1	387.7	184.4	42.9	209.8	270.0	—	1416.9	—
	A, E	640.4	264.2	253.7	58.2	249.5	249.4	—	1466.0	—
	M, I	641.1	502.6	194.3	44.7	152.9	389.0	128.8	1937.9	8.5
	M, E	442.0	201.0	149.4	24.7	76.4	189.2	53.0	893.5	16.9
	P, I	277.8	75.4	72.4	16.3	61.3	133.2	—	503.2	—
	P, E	349.4	86.2	96.0	16.3	87.2	209.6	—	636.1	—
Dark-colored	A, I	557.1	216.1	411.5	39.1	385.0	242.9	—	1608.8	—
	A, E	946.2	536.3	490.0	21.9	673.4	470.3	—	2667.8	—
	M, I	691.7	244.1	240.0	22.8	557.4	382.6	285.1	1756.0	6.2
	M, E	599.9	279.3	223.3	17.7	385.0	416.7	137.6	1465.2	10.6
	P, I	485.5	351.1	297.2	31.7	496.1	399.6	—	1661.6	—
	P, E	362.6	174.5	201.9	32.1	289.9	287.5	—	1061.0	—
Liver		557.1	547.1	346.7	39.6	561.7	330.6	299.6	2052.2	6.8
Heart		691.7	244.1	150.9	21.9	501.1	171.4	197.2	1609.7	8.2
Spleen		168.1	148.6	64.8	22.8	484.5	750.5	—	888.8	—
Pyloric appendages		363.4	299.4	74.7	17.7	493.9	264.8	—	1249.1	—
Kidney		485.5	222.6	41.1	11.2	360.5	841.5	—	1120.9	—
Stomach		235.0	111.3	15.2	15.8	418.9	160.8	167.4	561.2	3.4
Intestine		137.7	70.4	18.3	32.1	352.6	166.5	—	473.4	—

* The following structures and molecular weights were conveniently taken for the calculation: palmitoyloleoylglycerylphosphorylcholine (M.W. 778) for lecithin, palmitoyloleoylglycerylphosphorylethanolamine (M. W. 718) for phosphatidylethanolamide, palmitoyloleoylglycerylphosphorylserine (M.W. 762) for phosphatidylserine, stearalplasmalogen (M.W. 466) for acetal lipid, N-palmitoylsphingosylphosphorylcholine (M. W. 721) for sphingomyelin, and N-lignoceryl-O-galactosylsphingosine (M. W. 812) for cerebroside.

** The abbreviations used are the same as the legend of Table 1.

本研究は文部省科学研究費総合研究“水産生物脂質に関する研究”の一部として行つた。

文　　献

1) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男: 本誌, **22**, 787, 791; **23**, 273, 278 (1957); **24**, 735 (1959), **26**, 421, (1960),; *Nature*, **181**, 1282 (1958).

2) 片田宗男・座間宏一・五十嵐久尚: 本誌, **24**, 905 (1959).

3) FOLCH, J., ASCOLI, I., LEES, M., MEATH, J. A., LE BARON, F. N.: *J. Biol. Chem.*, **191**, 833 (1951).

4) GLICK, D.: *J. Biol. Chem.*, **156**, 643 (1944).

5) NOJIMA, S., UTSUGI, N.: *J. Biochem.*, **44**, 565 (1957).

6) WITTENBERG, J. B., KOREY, S. R., SWENSON, F. H.: *J. Biol. Chem.*, **219**, 39 (1956).

7) Mc KIBBIN, J. M., TAYLOR, W. E.: *J. Biol. Chem.*, **178**, 29 (1949).

8) 露木英男: 本誌, **22**, 490, 495 (1956); *Bull. Res. Coll. Agr. and Vet. Sci. Nihon Univ.*, **7**, 1 (1957); **8**, 1 (1958); 油化学, **7**, 189 (1958).

9) BLOOR, W. R.: *J. Biol. Chem.*, **114**, 639 (1936).

10) KAUCHER, M., GALBRAITH, H., BUTTON, V., WILLIAMS, H. H.: *Arch. Biochem.*, **3**, 203 (1943).

スゴカイ *Diopatra neapolitana* Delle Chiaje の発生と成長について*

崔　　相

(1959 年 10 月 31 日受理)

ON THE LIFE HISTORY OF THE POLYCHAETE WORM, *DIOPATRA NEAPOLITANA* Delle Chiaje

Sang Choe**

The tube-dwelling bristle-worm, *Diopatra neapolitana* which lives in sand occupying a parchment-like tube is found in common in the tidal flat along the coast of inland seas and frequently is used as a bait. The tube of this worm is characterized by the presence of fragments of shells or sea-weeds and other debris adhering to its upper part, which projects above the surface of the sand.

The present study was undertaken to secure information concerning on the life history of this worm, viz., breeding season, development, metamorphosis, growth and age etc. For this purpose observations and measurements were made of worms collected in 1955～1956 from the coast of Maeshiba and Umeyabu, Toyohashi City, Aichi Prefecture. Attempts were also made with success to inseminate the egg of this worm artificially and to culture the larva. The results obtained are summarized as follows:

1) The sexes are seperated and no external morphological difference can be detected between them. In the breeding season, however, they can be distinguished each other by the gonad color externally observable through the body wall. The breeding season lasts from June to early September, with the peak spawning in mid-July and early August.

2) The immature ovarian egg has two strings of nurse-cells which fall off as the egg matures. The matured egg has a diameter of approximately 200 microns.

3) About 13 hours after fertilization at 27.0～29.5°C, the embryo becomes a free-swimming protrochophore larva. After about 3 days the free-swimming larva grows to 0.5 mm in body length and sinks to the bottom. About a month after settling, the worm reaches 3～8 mm in body length.

4) Judging from the shifts in the modes found on the body-weight frequency distributions of the worms collected from the field, this worm seems to grow as follows:

Age	1 yr.	2 yrs.	3 yrs.
Total body length (cm)	12.4～13.9	21.1～23.2	28.5～31.7
Total body weight (gr)	1.3～ 1.7	3.4～ 4.0	5.7～ 6.3

5) The relation between the total body weight (W gr) and the total body length (L cm) is given by a formula, $W = 0.0184\,L^{1.0799}$.

スゴカイは古くから磯魚，とくにクロダイの釣餌として専業者，遊漁者の間に広く賞用されている。産地としては宮城県[illegible]，[illegible]，東京湾の羽田・千葉地先，[illegible]，伊勢湾，瀬戸内海，有明海，八代海などが知られている[1]，釣餌生物の需要は，[illegible]つつあることからこの海釣りの釣餌の需要とあいまつて，浅海干潟の多角的利用の観点からも多くの意義をもつものである。

* 本報告の大要は，1957 年 4 月 3 日の日本水産学会年会（東京都）において発表した。

** 東京大学農学部水産学科 (Fish. Dep., Fac. Agr., Univ. Tokyo).

愛知県豊橋市前芝町，梅籔町地先の干潟はスゴカイを多産し，同地方で漁獲されるスゴカイは中部，東海地方の一円の需要に応じているが，当地先産スゴカイの生態学的調査の一端としてここではその発生と成長について報告する。

棲　所

スゴカイは潮干帯の干潟を主棲息場とし，体から分泌された粘液によつて砂粒，貝殻片，木屑，植物・海藻の切片その他塵芥類を膠着してつくつた柔かい棲管にすみ，棲管はほぼ垂直に地平深く没している。スゴカイ棲所の環境条件としては底質とその固さ，干出時間，塩分，海水の流通，棲息地盤の変動などの諸要因が考慮されるが，ここではその概略についてだけ述べることにする。

底質は還元層の発達が少ない砂質を好適とし，泥質あるいは粘土性に富む固い底質は不適当である。棲息地の干出時間は最高5時間位のところから最大干潮線下50cm位までの広範囲におよぶ。低塩分に対する抵抗性は弱い。水温 19.0~21.0°C において，塩素量 3.5‰ の海水では 2.5 時間，6.4‰ では 1.5 日，8.0‰ では 2.5 日で斃死するが，天然においては虫体は地中深く潜入できるので，たとえ棲管が流入河川の直接影響下にあつても低塩分状態がよほど長期間続かない限りそれほどの影響はないものと思われる。またスゴカイの良好な漁場は海水の流通がよい河口部とくにその筋の両側に形成され，土砂の流失・堆積による地盤の変動がはげしいと思われる区域は虫体の成長が阻害される傾向がある。

産　卵　期

当地先のスゴカイの産卵期は6月から9月上旬におよび，盛期は7月中旬から8月上旬にみられる。この時期は夏季の高水温時にあたり，年によりあるいは棲息場所によつて多少の変動とズレが見られ，干出時間が長い場所では産卵が早く行われるようである。

生物学的最小形は雄で全体長 7.8cm，全体重 0.28g，雌で 8.2cm，0.36g であつたが，産卵期に 8.5cm，0.41g（後述する体重では 0.25g に相当する）以上の大きさの虫は雌雄とも確実に生殖に関与するようである。

雌雄異体であるが，第二次性徴は認め難い。しかし生殖期においては体腔内に充満する生殖細胞の体壁を透して呈する色調からその性を外見的に識別することができる。雄は暗青緑色の体表から乳白色の精巣が透視される。雌雄比は 1: 1.33（320尾）であつた。

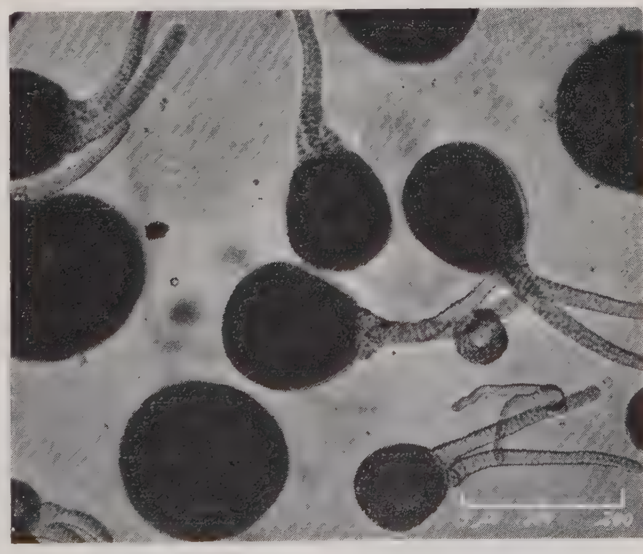
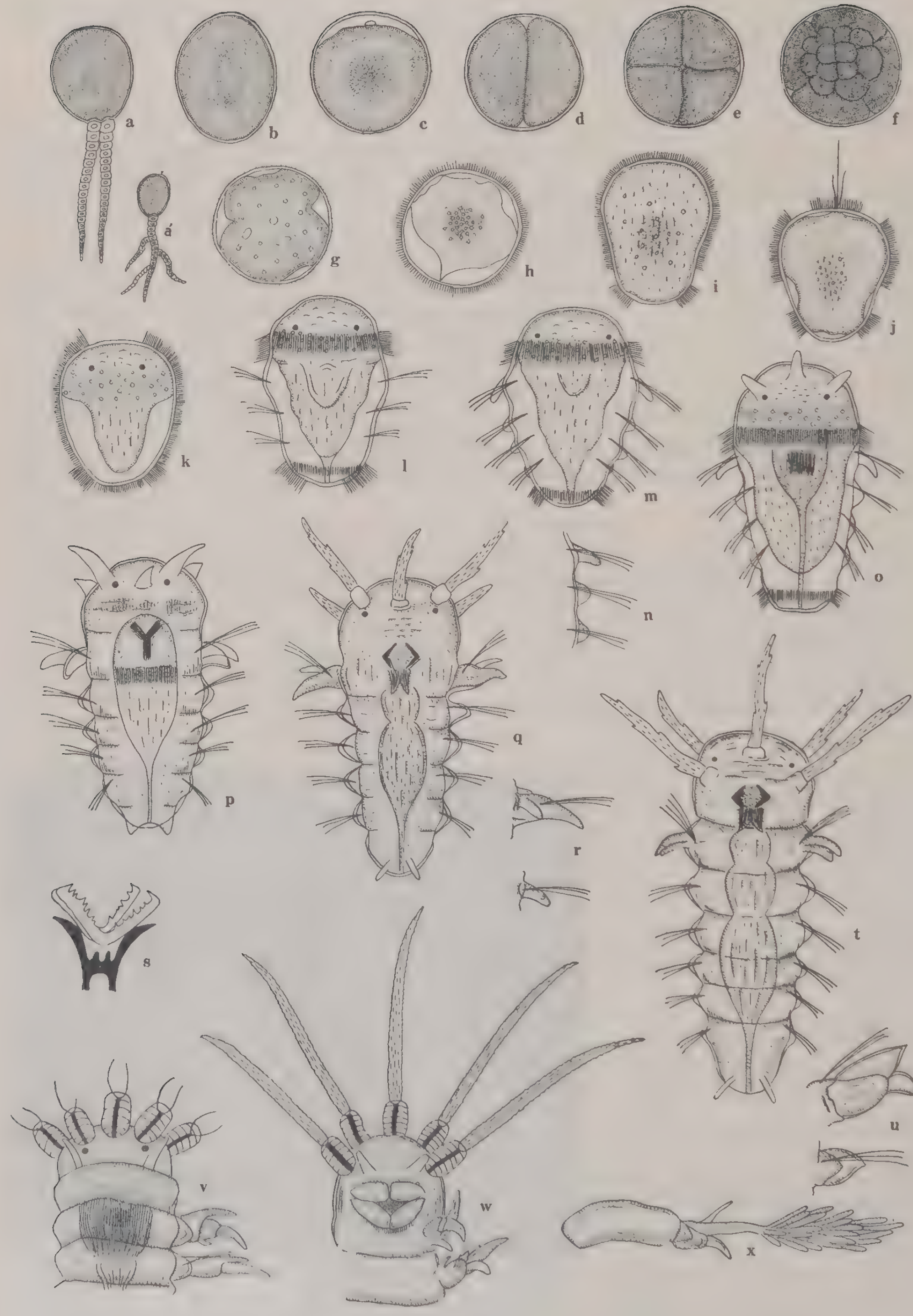


Fig. 1. The ovarian eggs. The immature egg has two strings of the nurse-cell. The nurse-cell falls off from the egg, as the egg grows up to the size of about 200 microns in diameter.

産卵習性に関して，産卵の週期が潮汐および月の位相週期と関連があるかどうかは不明であるが，棲管中における生活観察と産卵期前後の漁獲状況から推察して，少なくとも生殖群泳のごとき現象はおこなわないようである。

発　生

スゴカイの成熟卵は緑褐色球状をなし，卵径は 197.0~236.4μ，平均


a
b
c
d
e
f
á
g
h
i
j
k
l
m
n
o
p
q
r
s
t
u
v
w
x

卵径 211.8μ で，未熟卵は卵円形を呈し，特異な1対または枝状に分岐した淡黄色透明な栄養細胞をもつ (Fig. 1, Fig. 2–a)。栄養細胞は機械的な衝撃によつて卵体から分離することもあるが，卵細胞が 200μ 前後の大きさに発育すると自然に脱落し，未熟卵に栄養補給の役割をはたしているものと思われる。栄養細胞は多いもので1本 40 個前後が数えられ，各細胞はそれぞれ核をもつ。

特別な媒精法を施さない塩素量 16.50‰ の海水でおこなつた人工受精の，水温 27.1～29.5°C における卵発生の経過はつぎの通りである (Fig. 2–b～x)。

媒精後 35 分で第1極体が放出され，続いて第2極体が放出されるが，40 分を要して受精が完了する。50 分で2細胞期，1.8 時間で 16 細胞期，3 時間前後で胞胚期に達し胚はゆるやかな回転運動をはじめる (Fig. 2–g)。10 時間前後には嚢胚期に達し，胚は浮上游泳し (Fig. 2–h)，13 時間あまりで頂板に長い繊毛束をもつプロトロコフォアとなり，217 × 193μ 位の大きさになる (Fig. 2–i～j)。プロトロコフォア期に発達した頂板の繊毛束はその後退化消失し，満1日後は1対の眼点をもつ大きさ 229 × 166μ のメタトロコフォアとなる (Fig. 2–k)。1.5 日目の幼生は体前後部の繊毛環と3対のいぼ足の原基が発達し，各いぼ足はそれぞれ3本の游泳剛毛をそなえネキトケータ幼生となり，その大きさは 307 × 173μ であつた (Fig. 2–l)。2日目の幼生は大きさ 363 × 146μ 位に達し，尾端にさらに1対のいぼ足の原基があらわれ計4対のいぼ足をそなえるようになる。2.5 日目の幼虫は体幅の比率がより縮小し，頭部に3本の後感触手の原基があらわれ，体前後の繊毛環が退化縮小し，胃部，腸部の分化が明瞭になり 432×126μ 位の大きさとなる (Fig. 2–o)。3日目の幼生は頭部に5本の後感触手の原基が全部出揃い，いぼ足も5対となる。この時期に体前後の繊毛環が消失し，尾部に1対の尾触手が生じ，鉤状の顎をそなえて匍匐生活に移行する。大きさは 504 × 126μ 位であつた (Fig. 2–p)。4日目の幼生は体幅 (127μ) には変りがないが体長は 558～612μ に成長し，後感触手と1対の顎の発達が顕著である (Fig. 2–q～s)。5日から7日目における幼生はいぼ足が6対となり，後感触手も一だんと伸長するが，以後発生が進むにつれて後方へ体節数をまし成体の蠕虫形へ成育するようになる (Fig. 2–t)。受精後1ケ月あまりで体長が 3～8 mm に達し，すでに2本の前感触手と 6～7 対の鰓が発達して棲管生活を営むようになる (Fig. 2–v～x)。

成長と年令

成長測定に用いた材料は，1955 年7月から 1956 年7月にわたつて，虫体の成長が良好な一定の漁場を採集した。虫体の全体長（L cm）と全体重（W gr）の間には，$W = 0.0184\,L^{1.6799}$ の関係がみられるが (Fig.

Fig. 2. Developmental stages of *Diopatra neapolitana* DELLE CHIAJE.

a, Ovarian egg with the nurse-cell. a′, Ovarian egg with the branched nurse-cell. The egg with a branched nurse-cell occurs rarely. b, Mature egg from which disappeared the nurse-cell. c, Appearance of the first polar body. d, Two-celled stage. e, Four-celled stage. f, Sixteen-celled stage. g, Embryo 3 hours old. At this stage the embryo begins to rotate slowly. h, Embryo 10 hours old. i, Protrochophore larva of 13 hours old. The larva swims actively with well developed cilia. j, Protrochophore larva, showing apical tuft of cilia. k, Metatrochophore larva of 24 hours old, showing a pair of eye spot. Actual size of larva is 229 by 166 microns. l, Nectochaetal larva of 1.5 days old, showing provisional setae. Actual size of larva is 307 by 173 microns. m, Somewhat later stage. n, 1～3 rd parapodia of the same stage. o, Nectochaetal larva of 2.5 days old, showing the formation of peristomial tentacles. p, Nectochaetal larva 3 days old. At this stage the larva begins crawl-life. Actual size of larva is 504 by 126 microns. q, Nectochaetal larva of 4 days old, showing further growth of peristomial tentacles. Actual size of larva is 612 by 127 microns. r, 1 st and 2 nd parapodia of the same stage. s, Jaws of the same stage. t, Nectochaetal larva of 7 days old with six segments. u, 1 st and 2 nd parapodia of the same stage. v, Dorsal view of peristome of larva about 30 days old. w, Ventral view of peristome of the same stage. x, Gill of the same stage.

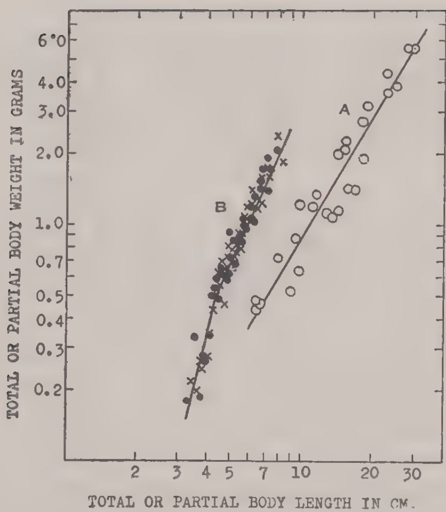


Fig. 3. The relations of the body weight to the body length. A: shows the relation of the total body weight to the total body length. B: shows the relation of the partial body weight (from the head to the 70th segment) to the partial body length (from the head to the 70th segment) in both sexes. ●: male, ×: female.

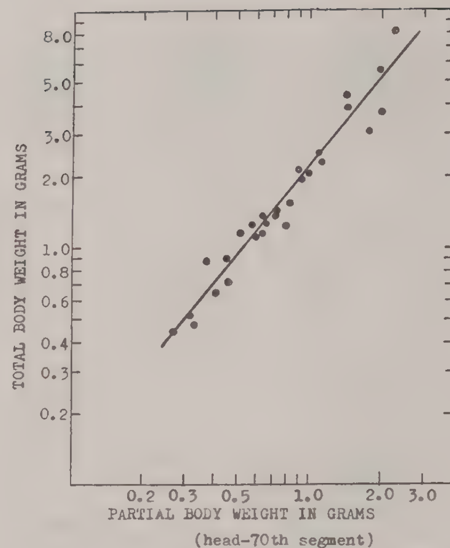


Fig. 4. The relation of the total body weight to the partial body weight.

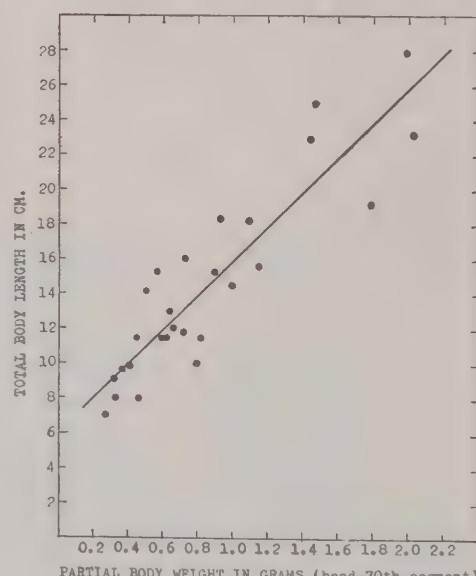


Fig. 5. The relation of the total body length to the partial body weight.

3–A)，便宜上頭部から第 70 環節までの部分体長 (l cm)，部分体重 (w gr) を用いて成長をはかつた*(部分体長，部分体重を単に体長，体重と略し，全体長，全体重と区別する。以下同様)。体重と全体重，全体長の間にはそれぞれ $W=2.0938w^{1.1676}$，$L=9.89w+6.00$ の関係が認められる (Fig. 4, 5)。体長と体重の関係には体長 4.3cm のところに変曲点があり，4.3cm 以下では $w=0.0026\,l^{3.5216}$，4.3cm 以上では $w=0.0195\,l^{2.2487}$ の関係が成立し，雌雄別による成長差は認められないようである (Fig. 3-B)。

スゴカイ成長および年令は，各年令群の体重組成は正規分布をするとして体重組成の変化で推定した。当地先におけるスゴカイの群成長は Fig. 6 にみるとおりである。7 月 19 日群の体重範囲 0.15～1.15 gr (モードは 0.75 gr) は明らかに 2 年群で，これより大きい虫体の年令組成は不明瞭である。10 月 31 日群では体重範囲 0.05～0.25 gr (0.15 gr) の当年の発生群が大量に出現し，2 年群の体重範囲は 0.45～1.25 gr (0.95 gr) となつている。翌年の 3 月 18 日

* スゴカイの棲管は地中深く没し，とくに成虫においては自截作用がつよく，原形のまま大量に採用することはきわめて困難である。筆者が採捕した虫体は大体 80～120 環節で切りとられており，また成虫においては 70 環節まで卵が存在するので，第 70 環節までの部分体長，部分体長を全体長，全体重に代用した。

には前年の発生群は体重範囲 0.25～0.85 gr (0.55 gr), 3年群は 0.85～1.65 gr (1.15 gr) に成長し, 産卵期前の5月13日には2年群の体重範囲が 0.25～1.25 gr (0.65 gr, 0.95 gr), 3年群は 1.25～2.15 gr となり, 体重範囲 2.15～2.95 gr のところに不明確ではあるが4年群の存在が認められ, そのモードは 2.65 gr 位と推定される。産卵期間中の7月9日には2年群の体重範囲が 0.25～1.15 gr (0.65 gr) で, 体重の増加は認められないが, これは前年の7月19日の2年群とよく合致するものである。このように当年群, 2年群, 3年群は体重組成の経月移動によつてかなり明瞭な成長過程を推定することができるが, 3年群から4年群への成長がやや不明瞭である。しかし5月13日の体重範囲 2.15～2.95 gr (2.65 gr) のものは, 3年群までの成長傾向から4年群と推定して間違いないと思われる。Fig. 6 の各年令群の体重のモードを用いてその経月移動をみると Fig. 7 のような成長傾向が認められ, 9～11月, 3～5月にかけて急速な成長をするが, 産卵期中は体重の減少が生じており, 実際に業者も8月のムシはやせているという。成長曲線によるとスゴカイの体重は生後1年で 0.65～0.80 gr, 同じく2年および3年で 1.53～1.75 gr, 2.28～2.60 gr に成長するが, 全体長, 全体重に換算すると1年で 12.4～13.9 cm, 1.30～1.50 gr, 2年で 21.1～23.2 cm, 3.40～3.95 gr, 3年で 28.5～31.7 cm, 5.65～6.30 gr となる。なお当地漁場におけるスゴカイの寿命は, とくに高年虫群の選択的な漁獲結果により最高満3年前後でおわつていると推定される。

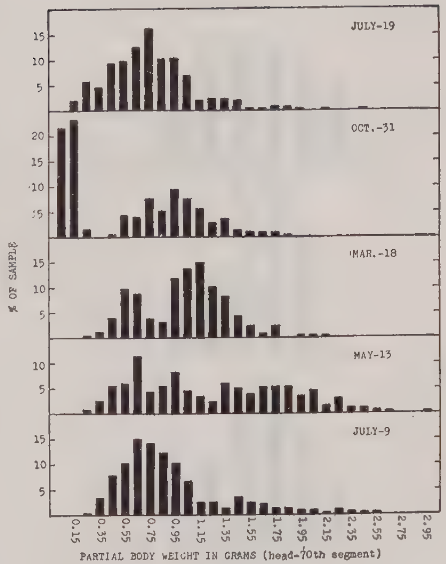


Fig. 6. Monthly frequency distributions of the partial body weight of *Diopatra neapolitana* collected on July 19, 1955 to July 9, 1956 at Maeshiba and Umeyabu, Aichi Prefecture.

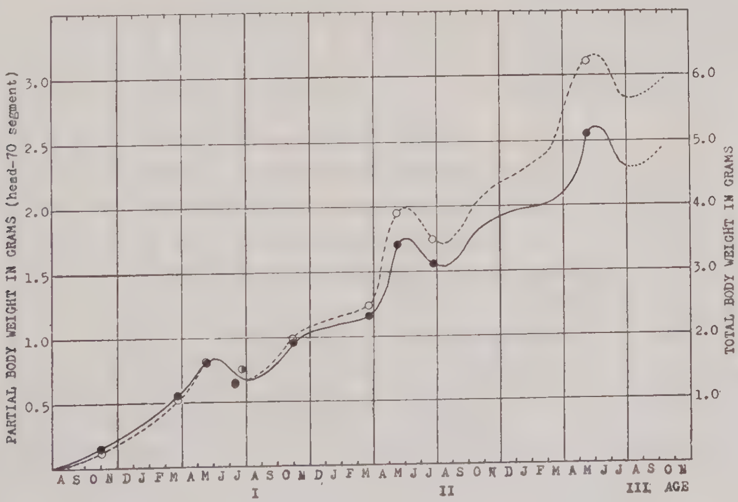


Fig. 7. Growth curves of *Diopatra neapolitana.*

——●—— showing the growth in the partial body weight;
- - -○- - - showing the growth in the total body weight.

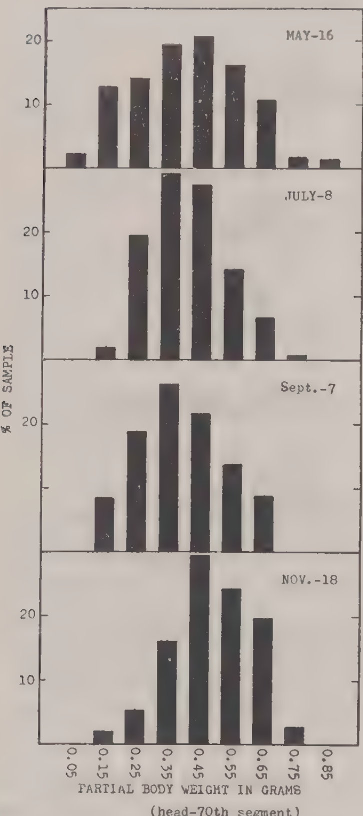


Fig. 8. Monthly frequency distributions of the partial body weight of *Diopatra neapolitana* collected on May 16, 1956 to November 18, 1956 from a denser worm bed at Maeshiba and Umeyabu, Aichi Prefecture.

当地先の最大干潮線に接した沖合地帯には 1 m^2 につき 50～400 尾の棲息量をみる高密度地帯があるが，この地帯の虫体は5月中旬から 11 月下旬にかけての成長量がきわめて小さいことからもうかがえるように (Fig. 8)，総体的に虫体が小さく，ほとんど漁獲の対象になつていない。このように成長が抑制される原因は明らかでないが，高い棲息密度と土砂の流下堆積などによる激しい地盤の変動などが原因しているのではないかと思われる。

考　　察

スゴカイの棲息環境としては塩分，干出時間，底質，海水の流通などの諸要因が考慮されるが，東京湾の千葉地先，渥美湾の前芝町，梅薮町地先のスゴカイ漁場はともに還元層の発達が少ない柔かい砂質からなる干潟上に形成されており，とくに底質組成とその固さは漁場構成と虫体の成長に影響する重要な要因になつているようである（未発表）。

成熟卵の形成において，成長期にある卵原細胞は多くの場合副細胞と密接し，副細胞は卵の栄養上重要な役割を果す例が数多く知られているが，環形動物においても Andrews は同じ *Diopatra* 属のものについて，非常に若い卵原細胞がその両側に2本の長い紐のような栄養細胞をもつことを報告しており[2]，スゴカイに近縁の *Ophryotrocha* では，はじめ卵原細胞よりずつと大きい1個の栄養細胞は卵の成長とともに小さくなり，ついに残骸となつて消失することが知られ[3,4,5]，また *Tompteris elegans* においては8個の生殖細胞が1群となつて卵巣から排出され，そのうちの1個だけが卵細胞となり，他の7個は卵の栄養に関係することなどが知られている[2]。スゴカイ卵の栄養細胞は，卵の一端から2本，あるいはまれに枝状に分岐した植物の幼芽のごとき単列の細胞のつながりであるが，通常卵が充分成熟すると自然に脱落し，卵に吸収または融合するものではないらしい (Fig. 1, Fig. 2-a, a')。一方卵発生において，受精後 13 時間あまりでプロトロコフォアとなり，満1日後にメタトロコフォア，15日でネキトケータ幼生に発達するが，ネキトケータ幼生はその後トロコフォア帽状体後端の躯幹部が突出して行われる外幼生型による変態様式にしたがつて変態する。3日後には5本の後感触手と顎歯をそなえて匍匐生活にはいるが，このような急進的な初期発生は，産卵時期の高水温によるものであろうが，短かい游泳期間に適応して，ネキトケータ幼生の各いぼ足の游泳剛毛がそれぞれ3本しか発達しないことは興味深い。

スゴカイは満1年で全体長が 12.4～13.9 cm，満2年で 21.1～23.2 cm，満3年で 28.5～31.7 cm に成長するが，春季に最もさかんな成長をとげ，産卵期間中は体重の減少がみられる。なお当地先のスゴカイ漁業は4月頃から始まり 12 月で終漁となるが，始漁期においてはまず高年虫群が選択的に漁獲され，以後その不足をおぎなうために漸次若年虫群を獲つている。そこで Fig. 7 でわかるとおり，7月中旬から8月上旬の産卵盛期までには，体重 1.15 gr 以上の高年虫群は大部分がとりつくされ，前年度の添加群が資源維持のための主産卵勢力になつていると考えられる。

終りに臨み，本研究の端緒を与えて下さり，かつ始終御指導いただいき本稿の校閲を賜わつた大島泰雄教授に対し心から御礼を申し上げる。

文　　献

1) 石川久治： 釣餌虫利用の研究，釣餌料研究会，福岡 (1938)，p. 32～34.
2) Wilson, E. B.: "The cell in development and heredity", Macmillan Co., N.Y. (1947), p. 332～333.
3) Braem, F.: *Zeitschr. für wiss. Zool.*, **57**, 187～223 (1893).
4) Korschelt, E.: *Zeitschr. für wiss. Zool.*, **57**, 224～289 (1893).
5) ―――――― : *Zeitschr. für wiss. Zool.*, **60**, 543～688 (1895).

抄　　録

酸法およびアルカル法で得たグリコゲンの比較　M. R. STETTEN and D. STETTEN, Jr.: *J. Biol. Chem.* **232** (1), 475～488 (1958).　5%冷 TCA で抽出したグリコゲンの分子量は($80.6 \sim 120 \times 16^6$), 30% 熱 KOH で抽出したものの分子量 (7.0×10^6) より遙に大きい。分離したグリコゲンをさらに5% TCA に入れた場合，23°C では5時間後に分子量は 1/8 になるが 0°C では 1/2 であつた。またグリコゲンを 1N KOH に入れ 100° に加熱すると2日後に分子量は 1/200 以下になつたが 10 N KOH では7日後でも 1/40 程度であつた。1 N KOHで加熱する場合でも N_2 ガス下では6時間後の分子量は 4/5 程度だが O_2 ガス下では約 1/20 になつた。TCA 抽出グリコゲンは 4500×g 3時間遠心分離すると 1/2 以上が沈澱するが KOH 抽出グリコゲンはほとんど沈澱しない。予じめ $NaBH_4$ または KCN で処理してアルデヒド活性を除いても，グリコゲンの熱アルカリに対する安定性は増加しない。TCA 抽出した場合，どうしても組織中にグリコーゲンが残るが，放射性同位元素を用いた実験結果から，この抽出され難いグリコーゲンの方が代謝上活性であり，組織の死の瞬間にフォスフォリラーゼと結合した状態のものであると考えられた。(永山)

サケ血漿中の副腎皮質ステロイド　J. G. PHILLIPS, W. N. HOLMES and P. K. BONDY: *Endocrinology* **65**, 811～818 (1959)　初期の研究では魚類血液（または血漿）中の主要副腎皮質ステロイドは，哺乳動物の糖質代謝に関与するホルモンに関係あるものとされていた。また哺乳動物の aldosterone は水，塩一電解質代謝に関係するものであるが，これまで魚類では見出されなかつたのは，哺乳動物血液中の含量も低いことよりして（約 1 μg/*l*)，，供試量の僅少のためであろうと考え，単一 species より大量の血液を採取（産卵のために海水域より淡水域へ移動したところ，すなわち副腎に対しこのホルモン分泌要求最大の所で採取）検討した。1尾から約 50～60 ml の血液を採取，15 分以内に遠心して血漿分離，ドライアイス冷却のポリエチレン瓶に取る。これにより 364 尾のベニサケ (*Oncorhynchus nerka* ♂) より合計 8,868 ml の血漿を得，この凍結血漿を実験室に持帰り処理。1 *l* 当り 25 m*l* の 1 N NaOH 添加，1 *l* の再溜クロロホルムで4回抽出，真空下 37°C でほとんど乾固，窒素で痕跡のクロロホルム除去，この残渣 1.2364 g を n–Hexane と 50% アルコールによる分配で精製 (Carstensen 法)，アルコール溶液を 1/10 容とした後 1/3 容のクロロホルムで4回抽出，窒素気流下乾固，これをペーパー・クロマトグラフィー（ホルム・アマイド/クロロホルム Neher 法）に供試し，cortisol 5.2 μg/100 ml, corticosterone 7.3 μg/100 m*l*, cortisone 6.1 μg/100 m*l*, aldosterone 0.12 μg/100 m*l* を検出，この他未知 Δ^4–3–ketones として X_1 0.63 μg/100 m*l*, X_2 0.1 μg/100 m*l*, W_1 および W_2 をともに約 0.25 μg/100 m*l* が認められた。これまで cortisol 乃至は corticosterone は多くの魚種に存在を認められているが，cortisone は検出されておらず（哺乳動物・蛇・去勢鶏の副腎分泌成分として見出されている)，このサケ血液中に存在することは興をひく。この場合 cortisone が cortisol の酸化生成物であることから artifact としての出現も考えられるわけであるが，本実験では添加 cortisol–4–C^{14} が cortisone–4–C^{14} へ変移せぬことを証明してその存在を確認した。(石原)

魚肝油中のビタミン A の異性体　P.S. BROWN, W. P. BLUM and M. H. STERN: *Nature*, **184**, 1377 (1959)　Opsin を使つて魚肝油中のビタミンAの異性体である iso–a (9–cis), および iso–b (9, 13–di–cis) の研究を行つた。これらの異性体は実験に用いた鱈，鮫および混合魚肝油中にビタミンAの約 20% 含まれている。なお魚肝油中にはこの他全トランスビタミンAおよびネオビタミンA (neo–a) の4つの立体障害を受けない異性体が見出される。Hubbard 等の合成レチネンの異性体の研究で iso–a レチネンおよびシス異性体に対応するレチネンのいずれが opsin で isorhodopsin ($\lambda_{max} = 487$ mμ) を形成することから魚肝油中の異性体はビタミンAであるとされた。opsin と incubate すると iso–b レチネンはゆつくり iso–a レチネンに異性化し，同じ色素を形成する。neo–b レチネンが混在すると rhodopsin ($\lambda_{max} = 500$ mμ) が生成し前記の反応を阻害する。このような事実に基いてその後 opsin による iso–a と iso–b の分析法が研究された。著者らはこの方法に基いて前記の魚肝油中の iso–a および iso–b の定量を行い，油のビタミンA中にこれらの異性体が 19～26% 含まれていることを明かにした。またネズミの肝油中にもこの異性体が存在 (14%) することが示された。魚肝油中にこれらの異性体が生成する原因は明かでない。ネズミの肝油では *in vivo* で異性化が起り，これらの異性体と全トランス型またはネオビタミンAとが平衡混合物を形成していることが明かにされているから同様の異性化が多分魚肝油中でも起るだろう。また魚の肝臓を処理している間に異性化が起る可能性も考えられる。*in vitro* における酸による異性化を行い，これらの異性体が平衡に達したとき opsin による分析および赤外分析を行い約 20% を含むことを示した。iso–a と iso–b の比は 2:1 から 4:1 であつた。赤外分析法は opsin を使う方法よりも優れているが試料を多く必要とする欠点がある。

(金光)

炭水化物酸硫エステルの赤外スペクトル A. G. LLOYD and K. S. DODGSON: *Nature*, **184**, 548 (1959) 最近コンドロイチン硫酸の異性体であるA, B, C エステル型硫酸基の位置の決定の研究に赤外分光計が用いられるようになり，これらの研究によりつぎのようなことが判つた。S–O の伸縮振動に伴なう 1,240 cm^{-1} における強い吸収帯は別として，C–O–S 系における伸縮振動に基く 800～850 cm^{-1} の範囲の吸収帯の移動は Hexosamine の硫酸基の空間配置に関係している。コンドロイチン硫酸Cの特性吸収帯は 820 cm^{-1} であり，AおよびBのそれは 850 cm^{-1} である。化学的脱硫酸によりこれらの吸収帯は消失する。Aの酵素分解後分離される N–アセチルコンドロシン硫酸は 850 cm^{-1} に吸収帯を持つ。グルコース，ガラクトース，およびN–アセチルグルコサミンを硫酸化し，これらの糖の6の位置に硫酸がつくと，1,240 cm^{-1} と 820 cm^{-1} に新しい吸収帯が現われる。N–アセチルガラクトサミンの硫酸基の6の位置もこの特性吸収帯で類推される。故にコンドロイチン硫酸Cの 820 cm^{-1} の吸収帯とガラクトサミンの6の位置の置換の関係が支持される。コンドロイチン硫酸Bのガラクトサミンの硫酸基が4の位置にあることはメチル化の研究による実証と，4の位置の硫酸化による 850 cm^{-1} の吸収帯を示すこととよく一致する。Aもまた同様である。なおこの他ツノマタ粘質物およびCarrageenin の赤外スペクトルもまたメチル化の研究と同様の結果を示している。(金光)

ニシン (*Clupea hareugus*) の化学的研究．I—トリメチルアミンオキシドおよび揮発性塩基について R. B. HUGHES: *J. Sci. Food. Agric.*, **10**, (8), 431～436 (1959) ニシン筋肉中のトリメチルアミンオキシド (I) の季節的変化を調べたが，RONOLD and JAKOBSEN (*J. Soc. Chem. Ind.*, **66** 160(1947)) が報告しているように冬に多く，夏に少い傾向がみられ，冬期の I の増加は魚の絶食と関係があると思われる。つぎに腐敗および缶詰製造中の I および他の揮発性塩基の変化を gas chromatography を併用して測定した。生鮮魚肉中にはアンモニアおよびトリメチルアミン (II) は存在するがモノメチルアミン (III)，ヂメチルアミン (IV) およびエチル～ペンチルアミンは見出されなかつた。10～13°C に放置すると I は次第に減少し II が増加し，III および IV も生じてくるが，これらの量は 30 時間後もきわめてわずかで II で約 10 mg % であつた。一方120°C で2時間魚肉を煮熟すると 40 mg % の II および 10 mg % の IV が見出された。しかし特に味の低下はみられなかつた。

I の分解に金属イオン特に鉄イオンが触媒的作用を営むことは缶の腐蝕と関連して重要な問題である。ニシン缶詰製造後になお多量の I が肉中に残存しており，例えば 14 オンス缶の headspace 中のガス状酸素は 3～5 *ml* であるのに対して肉中には酸素として 75～100 *ml* に相当する I が含まれ，貯蔵中の酸化作用にはガス状酸素より重要な役割を果すものと思われる。(岡市)

ボツリヌス菌によるトキシン生産の生理—II．生長，自己消化およびトキシン生産に対する炭素源の影響 P. F. BONVENTRE and L. L. KEMPE: *Applied Microbiol.*, **7** (6), 372～374 (1959) ボツリヌス菌によるトキシン生産機構はまだ明確にされていない。先に菌の自己消化とトキシン生産は関連があることを報告したが，今回は炭素源の影響について実験した。glucose を培地に加えないとトキシン生産は約 1/1,000 に減少し，相当長期間培養しても完全には自己消化しない。このことはトキシンが細胞内に存在した場合に検出できないことを示しているが，細胞を破潰しても毒性はほとんど増加しないから，自己消化酵素の合成とともにトキシン生成にも glucose が必要であることが判つた。つぎに糖の種類の相違による影響についてみると，実験した総ての糖による生長率はほぼ等しいが，最高発育は glucose と maltose であつた。トキシン生産に最も良好な結果を示すのは glucose と maltose であつて，glycerol, pyruvate, ribose は多少の増加が見られるに過ぎない。galactose, lactose, xylose, inositol は糖を加えない場合と全く同じであつた。(横関)

ボツリヌス菌によるトキシン生産の生理—III．生長，自己消化およびトキシン生産に対する pH と培養温度の影響 P. F. BONVENTRE and L. L. KEMPE: *Applied Microbiol.*, **7** (6), 374～377 (1959) 生長の最適 pH は 5.5～7.0 で，これについで 7.0～8.3 が良好であつた。5.3 以下および 8.5 以上では生長が起らない。自己消化の最適 pH は 6.5～7.0 の間にあるから，この酵素の最適 pH 範囲は比較的狭いことを示している。またトキシン生産の最適 pH は 5.5～8.0 であるが，安定性は 6.5 以下の方がよい。アルカリ側でトキシンは不安定であるが，その生成にはそれほど影響しないようである。トキシンは pH 5.5 で最も安定で，しかもこの条件は自己消化率が比較的遅いことは興味ある事実である。したがつて細胞内に存在するトキシンの量を規制している因子は自己消化の程度およびトキシンの安定性にある。生長率，自己消化，トキシン生産は培養温度でかなり変化する。28°～40°C の間で最高になり，48°C では多少生長するが，毒性の増加は認められない。これは生成が阻害されるのではなく，生産されたトキシンが分解されて不活性化されるからであろう。4～10°C では生長もトキシン生産も認められない。しかし 10～18°C ではトキシンが非常に安定であるから長期間培養すると毒性は徐々に増加する。(横関)

哺乳動物筋肉のグリコーゲン構造と死後硬直 R. A. LAMRIE, D. J. MANNERS, A. WRIGHT: *Biochem. J.*, **73** (3), 485～490 (1959) 馬と雄牛の

心臓，横隔膜，腰筋，脊部最長筋，胸骨頭筋の各筋肉の死後硬直前および解硬後におけるグリコーゲンの性質を調べた。馬の筋肉については，硬直前および解硬後ともグリコーゲン分子の平均鎖長は 17 のグルコース残基よりなる。しかしグリコーゲンの構造上においては，他の哺乳動物や脊椎動物のものより，分枝の数が少い特徴を示した。雄牛の胸骨頭筋のグリコーゲンは解硬後では平均鎖長が短かつたが，これはグリコーゲン⇄グルコース 1 燐酸の反応酵素系が阻害されたか，あるいはこの筋肉グリコーゲンが基本的に異質なためであろうと考えられる。その他，解硬筋肉 pH とグリコーゲン量との関係，グリコーゲンと沃度反応の分光化学的検索，および concanavalin A 反応，酵素的分解の性質，電気泳動的性質より，これら筋肉グリコーゲンの化学的および生理的意義について考察した。(尾藤)

Gas-liquid chromatography による油脂中の脂肪酸の定量分析 B.M. Craig and N.L. Murty: *J. Am. Oil Chem.*, **36**, 549～552 (1959) 油脂の脂肪酸組成をガス・液相分配クロマトグラフィ (G. L. P. C.) によつて測定している。固定液相としては adipic acid—diethylene glycol polyester および succinic acid—diethylene glycol polyester を用い，これらの合成法を述べている。試料としては植物油および既知脂肪酸メチルエステルの混合物を用い，植物油は diazomethane による方法または Na–methoxide を触媒とする方法によつてメチルエステルとした後，205°C で分離，同定並びにピークの面積による定量を行つている。G.L.P.C. によつて得た脂肪酸組成は標準分光分析法から得た価と比較すると，リノール酸では高く，リノーレン酸では低い値が得られるが，G.L.P.C. によつて得た脂肪酸組成から計算によつて得た沃素価は実測の沃素価とよく一致し，G.L.P.C. で得た結果が信頼性のあることを示している。この分析において問題となる点は diethylene glycol が熱に不安定であることであるが，ethylene glycol または 1, 4–butanediol で置換することによりこの点を改良し得ると述べている。(豊水)

好気性菌胞子の中間代謝—IV. 胞子の発芽中におけるアラニンの脱アミノ作用 R. O'Connor and H. Halvorson: *J. Bact.*, **78** (6), 844～851 (1959) 芽胞は簡単な物質に接触させると急速に発芽を始めるが，このような発芽促進物質のうち最もよく知られいるのは L–アラニンである。しかしその機作はまだ明かにされていない。今回の実験はアラニンが基質として利用されるのか，あるいは触媒として利用されるのかを明かにする目的で行つた。胞子に L–アラニンを加えるとアンモニヤを出すが，この時胞子を heat shock しないとアンモニヤは発生しない。この脱アミノ酵素は胞子内部の必須部分に存在することを確めた。また加えたアラニンの消費よりアンモニヤの生成の方が多いので，この原因を放射性アラニンを用いて実験したところ，発生したアンモニヤの大部分は胞子の貯蔵物質から由来したことが判つた。この際アンモニヤと同時に等モルの pyruvate が生成される。pyruvate は脱炭酸作用により炭酸ガスを生ずるが，この作用を阻害すると発芽も阻害を受ける。pyruvate の基質も大部分胞子の貯蔵物質であるが，培養の初期に加えたアラニンが選択的に利用される。今回の実験ではまだアラニンの作用を完全に理解することはできないが，脱アミノ作用は発芽の本当の初期の段階ではなく，第 2 期の反応ではないかと思われる。(横関)

酵素の活性金属イオンの証明法とその豚肝臓エステラーゼへの応用 W. Langenbeck, K.A. Müller, and K. Lange: *Z. Physiol. Chem.*, **314**, 130～137 (1959) 豚の肝臓エステラーゼの透析に関する報告はこれまで Ruffo (1943) のみ。彼によると肝臓の乾燥粉末の抽出液を水に対して透析すると不活性化—活性復活—活性完全喪失の経過をたどる。この際，最初に不活性化した酵素液に Cu を添加すると活性回復するという。そこで Roesngart *et al.* (1952) 法に準じて酵素液を精製供試，中性の水に対する透析では非常に徐々に，しかも継続的に不活性化するが，Sörensen の phosphate buffer に対して透析する時は非常に早く活性減少が起る。この際その速度は pH により異り，pH 6～8.5 の間が活性減少極大で，pH 6 以下 8.5 以上では非常に小さい。(この phosphate buffen に対して透析して不活性化したエステラーゼ液に 10^{-3} M Zn, Mg, Ni, Cu, Cd, Co, Mn, Ag, Ca 液を添加しても活性回復は見られぬ)。この透析による活性減少が金属に起因するや否やを見るために，一連の 'Komplexbildner' をエステラーゼに作用されたところ，1–Nitroso-naphthol–(2) および Salicylaldoxim が強く阻害することが判明した。すなわちエステラーゼには金属イオンが必須で，phosphate buffer に透析するとその金属イオンが取去られ，酵素が不可逆的に変化，そのために活性回復が起らぬことになると考えた。そこで透析の間，最初から存在するような種々の金属塩を添加する時は活性が保持されることが予想され，実験の結果 Co, Ni, Ag が大部分の活性を保持することが示された。肝臓には Co が比較的豊富に存在する故に，これが豚の肝臓エステラーゼの 'natürlich Ferment-metall' であろうと推論す。

また同様にして yeast alcohol dehydrogenase の活性金属イオンは Zn なることを示す。(石原)

脂肪酸メチルエステルの熱酸化 V. Ramanathan., T. Sakuragi, and F.A. Kummerow: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **36** (6), 244～248 (1959) ラウリン酸，ステアリン酸，オレイン酸の各メチルエステルに精製した O_2 を吹きこみながら 200°C で加熱酸化し，一定の間隔で，エステルの重量減少を測定するとともに，生成した揮発性物質のうち，非

凝縮性の CO_2, CO, H_2 は吸収管で捕集して重量変化を測定し，凝縮性物質はメタノール溶液としたのち，カルボニルは 2,4 DNPH，脂脂酸はヒドロオキザム酸塩として，それぞれ沪紙クロマトにより確認し，同時に全試料について赤外分析と特数測定を行つて，これらエステルの酸化機構を追究した。その結果，生成した揮発性凝縮物中に多種多様のカルボニルおよびカルボキシル化合物を確認し，エステルに対する O_2 の攻撃が不規則的であることを立証するかたわら，多くの低級化合物が第二次酸化生成物であることを確認した。酸価と沃素価の変化によりエステルの酸化過程における切断，ラクトン形成，および重合の存在が明らかであつた。これらの結果から明らかにされた機構は，遊離基によるもので，まず O_2 の脱水素反応により不飽和を生じ，そこに hydroperoxide が形成され，すぐに分解して種々の hydroxy，carbonyl，carboxyl 化合物となり，さらに分解して CO_2, CO, H_2O を放出し，炭素間結合またはエステル結合で重合がおこるとした。

(外山)

硬化大豆油中のトコフェロールの酸化　C. D. Evans., E. N. Frankel and P. M. Cooney: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **36** (2), 73～77 (1959)

精製脱臭大豆油を硬化して，I.V. のことなる試料を調製し，その自働酸化過程におけるトコフェロールの分解を AOM 法を用いて検討した。Ni 触媒残渣により硬化油中のトコフェロールは急速に酸化し，硬化油の安定性が著しく減少するが，クエン酸を 0.01% 添加すると，この影響はのぞかれ，試料は明らかな誘導期間を示す。誘導期間中のトコフェロールの減少率は硬化油の I.V. に影響され，その減少に伴なつて増加した。油脂の誘導期間は I.V. よりもそのリノール酸含量に密接に関連する。誘導期間後のトコフェロール減少率は，油の硬化程度に伴なつて減少し，リノール酸含量の低いものほど急激な変化を示した。油からリノール酸を除くとトコフェロールの分解に対する自触作用も除かれるので，トコフェロールは一定の率で減少する。パーオキサイドの一定量あたりのトコフェロール消失量は油の硬化程度にしたがつて明らかに増大する。油のハイドロパーオキサイドは原油中よりも硬化油中で，より安定であるために一そう多量に蓄積されるので，トコフェロールの分解は大きくなる。

(外山)

雑　　録

○ 3 月関東在住役員会

1. 開催日　昭和 35 年 3 月 22 日
2. 場　所　東京水産大学会議室
3. 出席者　田内会長　他 18 名
4. 議　事

a. 昭和 35 年度評議員会提出議案の審議について。

b. 農学会報告

c. 藤原賞および朝日科学奨励金応募論文の推薦について。
表記については，本年度は推薦を行わないことに決定した。

d. 入 会 承 認
個人　6 名　　（うち外国　1 名）

第 10 回太平洋学術会議： 第 10 回太平洋学術会議は National Academy of Sciences と Bernice P. Bishop Museum の協賛により太平洋学会とハワイ大学の共催で，明 1961 年 8 月 21 日から 9 月 6 日までホノルルのハワイ大学で行われることとなつた。専門部会は 8 月 21 日から 9 月 2 日まで，引続き 9 月 6 日まで見学旅行がある。詳細の発表は来る 8 月の予定。なお照会先は Secretary-General, Tenth Pacific Science Congress, Bishop Museum, Honolulu 11, Hawaii, U. S. A.

正　誤　表

1) 291 頁，Fig. 3. の説明

誤	正
●----● control. ×-·-× 0.1% sorbic acid (added at 0 min.). ×——× 0.1% sorbic (added at 30 min.). ●-·-● 0.2% sorbic acid (added at 0 min.). ●——● 0.2% sorbic acid (added at 30 min.).	●----● control. ×——× 0.1% sorbic acid (added at 0 min.). ×-·-× 0.1% sorbic acid (added at 30 min.). ●——● 0.2% sorbic acid (added at 0 min.). ●-·-● 0.2% sorbic acid (added at 30 min.).

2) 292 頁の最終行と 293 頁の第 1 行の間に
「4，界面活性剤との併用効果について：発芽に薬品類が阻害効果のない場合には胞」

3) 290 頁，Fig. 1. の説明の下から第 3 行
誤　65°C 15 min.　　正　65°C, 15 min.

4) 291 頁，Fig. 5. の題目の第 3 行
誤　spores. and influence　　正　spores, and influence

STUDIES ON THE ADRENAL GLANDS OF TELEOSTS—III*. ON THE DISTRIBUTION OF CHROMAFFIN CELLS AND INTERRENAL CELLS IN THE HEAD KIDNEYS OF FISHES

Mikio OGURI**

(Received Dec. 16, 1959)

Adrenal glands are important endocrine organs and in mammals it is ascertained that the adrenal cortex is necessary for the regulation of certain aspects of water, mineral and carbohydrate metabolism, and for releasing of immune bodies. It is accordingly supposed that the adrenal glands of teleosts may be also related to such important functions. However, these functions in teleosts have unsatisfactorily been elucidated. On the adrenal glands of Japanese teleosts no studies, except authors', were reported. In this paper, the histological observations on the adrenal glands of ten species of teleosts are recorded, as a continuation of the results obtained in the previous papers[1),2)].

The mammalian adrenal glands consist of medulla and cortex. However, in teleosts the cells corresponding to the medullary cells of adrenal glands are called the chromaffin cells and appear in the head kidneys[3)]. As for the organs homologous to the mammalian adrenal cortex in teleosts, two organs, i.e. the groups of acidophile cells in the head kidneys and the corpuscles of STANNIUS, have long been described and the former organ has been named "anterior interrenal" and the latter "posterior interrenal"[4)]. The groups of acidophile cells surround the cardinal veins and their branches in the lymphoid head kidneys. On the other hand, the corpuscles of STANNIUS are located on or embedded in the dorsal or ventral surface of the kidneys. Histologically, the cells composing these corpuscles are remarkably different from the acidophile cells[1),2)].

Embryologically, the acidophile cells in teleosts arise from the coelomic mesoderm and also have the same developmental origin as the cortical cells of mammals[5)]. On the other hand, GARRETT[6)] ascertained, recently, that the corpuscles of STANNIUS arise from the walls of the pronephric ducts. He also concluded that these corpuscles are not corresponding to the adrenal cortex of mammals. His conclusion is supported by some experiments[7),8)]. It is apparent, therefore, from the above reasons, that the acidophile cells are the only organ corresponding to the adrenal cortex of mammals. Accordingly, in the following paper, the author calls these cells as "interrenal cells".

---

* A part of the work for the Doctor's degree of the author under Prof. Y. SUYEHIRO.

** Faculty of Agriculture, Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan. Present address: National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan. (小栗幹郎：放射線医学総合研究所)

Material and Methods

Ten species of teleosts used in this study are shown in Table 1. The head kidneys containing adrenal tisssues were fixed in Bouin's or Zenker-formol fluids and imbedded in paraffin. The stains employed were Mayer's acid haemalum and eosin, Gomori's chrome-haematoxylin and phloxine, Heidenhain's iron-haematoxylin and Mallory's trichrome stain.

Table 1. Fish species used in the study of adrenal tissues.

Oncorhynchus keta "Siro-sake"	*Girella punctata* "Mejina"
Plecoglossus altivelis "Ayu"	*Chrysophrys major* "Madai"
Ctenopharyngodon idellus "Sôgyo"	*Platycephalus indicus* "Kochi"
Trachurus japonicus "Ma-aji"	*Chelidonichthys kumu* "Hôbô"
Lateolabrax japonicus "Suzuki"	*Limanda yokohamae* "Mako-garei"

Microscopic observations and discussion

The head kidneys of all species of teleosts examined consist of lymphoid tissues but some uriniferous tubules are detected in the lymphoid tissues of horse mackerel, *T. japonicus*, red sea-bream, *C. major*, sea robin, *C. kumu* and of mud dab, *L. yokohamae*. In the lymphoid tissues of *C. idellus*, meanwhile, renal thyroid follicles (Chavin[9]) are detected. In goldfish, *Carassius auratus* and carp, *Cyprinus carpio* described in the previous paper also these thyroid follicles are observed. Occasionally, in goldfish these follicles are present even in the adrenal tissues (Fig. 1–4).

Adrenal tissues, i.e. the chromaffin cells and interrenal cells are distributed in the head kidneys, surrounding the cardinal veins and their branches. The interrenal cells are found as densely packed cell groups in sweetfish, *P. altivelis* and *C. idellus* or as irregular cell-cords in the other eight species (Fig. 1–1, -2 and –5). These cells are stained with acid dyes (eosin, phloxine or acid fuchsin) and contain relatively large round or oval nucleus, in which commonly a well-defined nucleolus and a small number of chromatin are found. On the other hand, the chromaffin cells appear in the walls of the cardinal veins and their branches, or they are scattered between the interrenal cells. The chromaffin cells are stained faintly with basic dyes, and their nuclei are oval or irregular in shape and are larger than those of the interrenal cells in various kinds of fishes.

The interrenal cells have a close relationship with the chromaffin cells in their locality; six types of distribution, of both cells, were distinguished in the previous paper.[1] In chum salmon, *O. keta* and *P. altivelis* the arrangements of interrenal cells and chromaffin cells belong to type III. In these fishes the chromaffin cells and the interrenal cells are distributed separately within the head kidneys and therefore both cells never come in contact (Fig. 1-2, -3, Fig. 2-1). It is of interest that the distribution of adrenal glands in these lower-grade teleosts is similar to that of adrenal glands in

lampreys[10], elasmobranchs[11] or lung-fish[12),13].

In *T. japonicus*, *L. japonicus*, *C. major* and *L. yokohamae*, the chromaffin cells lie in the walls of the cardinal veins and their branches, while the groups of interrenal

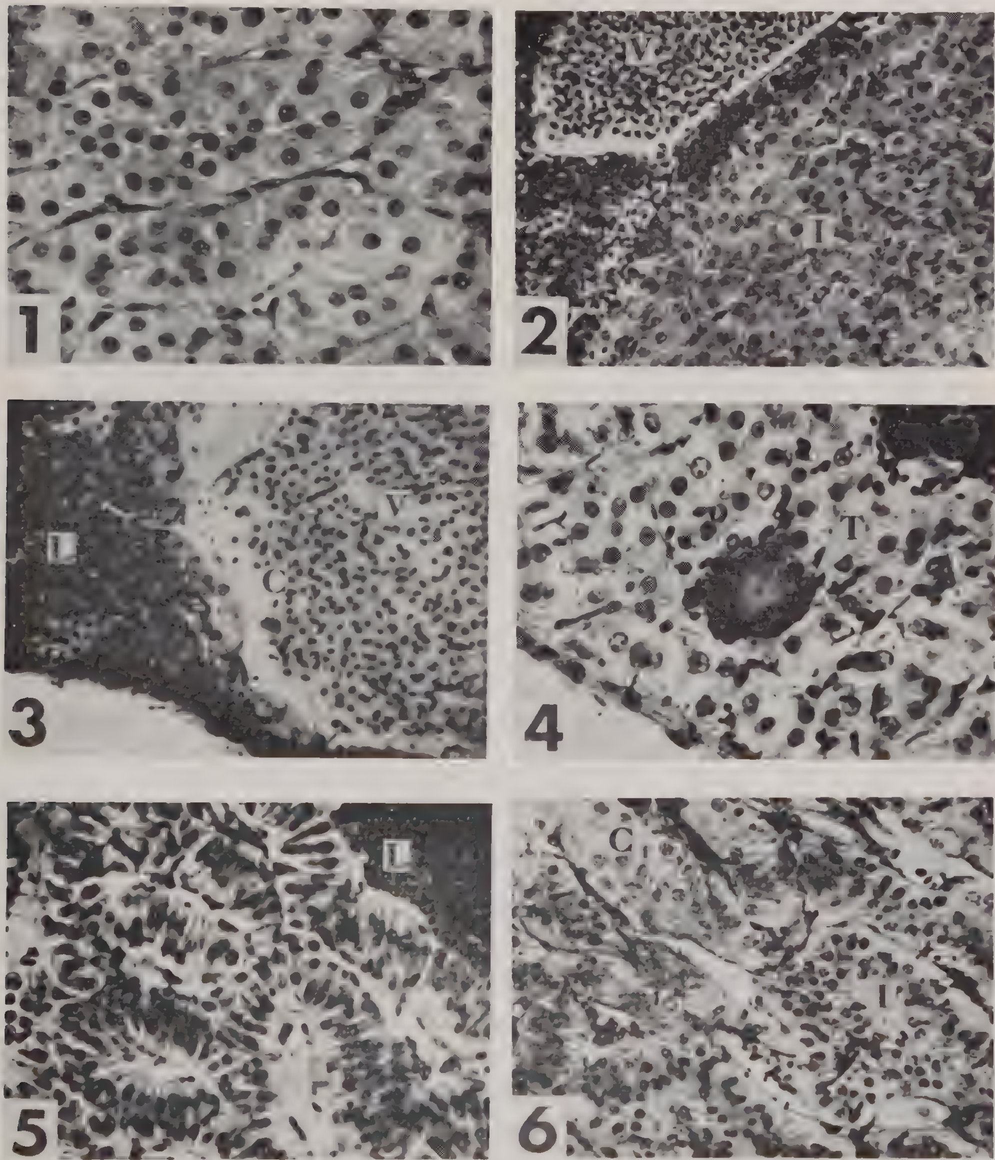


Fig. 1. 1. Interrenal cells of *Oncorhynchus keta*. ×380. 2. and 3. Head kidneys of *Plecoglossus altivelis* ×380. 4. Thyroid follicle in the adrenal tissue of *Carassius auratus* ×380. 5. Interrenal cells of *Niphon spinosus** ×370. 6. Interrenal cells and chromaffin cells of *Paralichthys olivaceus** ×370.
C, Chromaffin cells; I, Interrenal cells; L, Lymphoid tissue; T, Thyroid follicle; V, Cardinal veins.
* Adrenal tissues of these fishes are described in the previous paper[2].

cells surround these veins. Therefore, the arrangements of both cells in these fishes belong to type II of distribution of adrenal tissues. This type of distribution is unique in teleosts and has not been observed in the adrenal glands of other vertebrates.

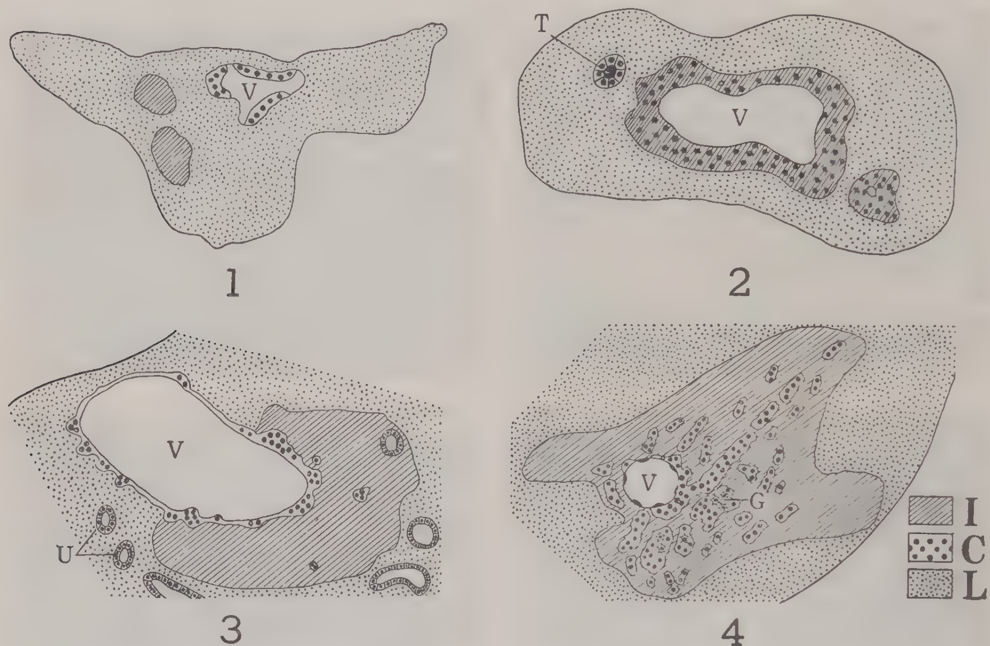


Fig. 2. Semi-diagrammatic figures showing the relation of the interrenal cells to the chromaffin cells, surrounding the cardinal veins and their branches in the head kidneys.
1. *Oncorhynchus keta*; 2. *Ctenopharyngodon idellus*; 3. *Chelidonichthys kumu*; 4. *Paralichthys olivaceus*.*
I, Interrenal cells; C, Chromaffin cells; L, Lymphoid tissues of the head kidneys.
G, Ganglion cells; T, Thyroid follicle; U, Uriniferous tubules in the head kidneys; V, Cardinal veins or their branches.
* Adrenal tissue of this fish is reported in the previous paper[2].

In *C. idellus* as in goldfish and carp, reported in the previous paper, the interrenal cell groups lie around the cardinal veins and their branches and the chromaffin cells are scattered as separated or grouped state in these interrenal cells (Type I, Fig. 2–2). Therefore, in these tissues the interrenal cells are intermingled with the chromaffin cells and also resemble the adrenal glands of amphibians and reptiles. Adrenal tissues of characin, *Astyanax mexicanus* and killifish, *Fundulus heteroclitus* seem to belong to this type of distribution (Rasquin[7], Pickford[8]).

In *G. punctata*, flathead, *P. indicus* and *C. kumu* the chromaffin cells appear not only in the walls of the cardinal veins but also in the groups of the interrenal cells surrounding these veins (Fig. 2–3). This type of distribution is not described in the previous paper and the author calls it type VII of distribution.

As a conclusion, it is interesting and significant in the phylogeny of the adrenal glands of vertebrates that the interrenal cells and chromaffin cells, which are separately

distributed in lower vertebrates, are observed for the first time to be in contact in some teleosts; and that some species have adrenal glands resembling histologically those glands in various classes of vertebrates respectively, but not in mammals. In this connection, the adrenal glands of flat fish, *Paralichthys olivaceus* are similar to those of bird, as Oguri and Hibiya reported in the previous paper[2] (Fig. 1–5, Fig. 2–4).

Summary

Distribution of interrenal cells and chromaffin cells in the head kidneys was investigated histologically on the adrenal glands in ten species of teleosts collected newly and also some discussion on these glands was added.

Seven species of them belong to type I, II or III of distribution described in the previous paper but *G. punctata*, *P. indicus* and *C. kumu* belong to a new type (Type VII), observed in this paper. In these fishes of type VII, chromaffin cells appear not only in the wall of the cardinal vein but also in the groups of interrenal cells surrounding the cardinal vein.

The author wishes to express his deep gratitude to Prof. Y. Suyehiro and Assoc. Prof. T. Hibiya for their valuable advice and guidance.

References

1) Oguri, M. and T. Hibiya: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **22**, 621–625 (1957).
2) ——— and ———: *Ibid.*, **23**, 144–149 (1957).
3) Giacomini, E.: *Monit. Zool. Ital.*, **13**, 183–189 (1902).
4) ———: *Mem. Accad. Sci.*, Bologna, 6 ser. **5**, 113–147 (1908).
5) ———: *Ibid.*, 8, 67–87 (1912).
6) Garrett, F. D.: *J. Morph.*, **70**, 41–68 (1942).
7) Rasquin, P.: *J. exper. Zool.*, **117**, 317–358 (1951).
8) Pickford, G. E.: *Bull. Bingham oceanogr. Coll.*, **14**, 5–41 (1953).
9) Chavin, W.: *Zoologica*, N. Y. **41**, 101–105 (1956).
10) Gaskell, J. F.: *J. Anat. Physiol.*, **44**, 59–67 (1912).
11) Aboim, A. N.: *Portugaliae Acta Biol.*, Sér. A, **1**, 353–383 (1946).
12) Holmes, W.: *Proc. Roy. Soc.*, London, Ser. B. **137**, 549–562 (1950).
13) Gérard P.: *Arch. Biol.*, Paris, **62**, 371–377 (1951).

STUDIES ON THE ADRENAL GLANDS OF TELEOSTS—IV*. HISTOCHEMISTRY OF THE INTERRENAL CELLS OF FISHES

Mikio OGURI**

(Received Dec. 16, 1959)

The cortical cells of mammalian adrenals and the interrenal cells of avian adrenals contain ascorbic acid, and lipoid droplets composed mainly of neutral fat and cholesterol or its esters. It is well known that these substances show remarkable alterations with the functional changes of these glands. Subsequently, close relationship is supposed to exist between these substances and cortical hormones.

Concerning the histochemical studies on the interrenal cells of teleosts, few investigations have been made. Therefore, this paper presents a report on the results of the histochemical observations on the interrenal cells of teleosts and elasmobranchs.

Material and methods

In the present work, four species of fresh-water, and three species of marine teleosts are used for histochemical examination. To the purpose of reference, three species of elasmobranchs are also employed. These species are listed in Table 1.

Histochemical procedures used were as follows. These methods have proved to be useful in examining the physiological activity of the adrenal cortex of mammals. For the demonstration of lipoid and cholesterol, the head kidneys containing interrenal cell groups in teleosts, or interrenal bodies in elasmobranchs were fixed in 10% neutral formalin, to which 1% $CaCl_2$ was added and freezing sections were stained with Sudan III and counterstained with MAYER's acid haemalum, or SCHULTZ-cholesterol test[1] was made in these sections. For the examination of ascorbic acid, DEANE and MORSE technique[2] was applied.

Results

Lipoid droplets: In the interrenal cells of all species of teleosts examined no lipoid droplets were detected with Sudan III stain. The cytoplasm stains only faintly and diffusely with this dye. In all the interrenal bodies of elasmobranchs investigated, on the other hand, many lipoid droplets were observed, which are variable in size, whose amount is different in the functional state of these bodies (Fig. 1 1). Even in the interrenal bodies of embryos of *Triakis scyllia*, the lipoid droplets present were as much as those of adults.

* A part of the work for the Doctor's degree of the author under Prof. Y. SUYEHIRO.

** Faculty of Agriculture, Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan. Present address: National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan. (小栗幹郎：放射線医学総合研究所)

Cholesterol: Using the SCHULTZ-cholesterol test, the change of colour in the tissue to bluish-green indicates the presence of cholesterol or its esters. Histochemically neither cholesterol nor its esters were demonstrated in the interrenal cells of teleosts. On the contrary, SCHULTZ-cholesterol test was positive in the interrenal bodies of elasmobranchs. Therefore, it is evident that cholesterol or its esters are abundant in the cells of these bodies.

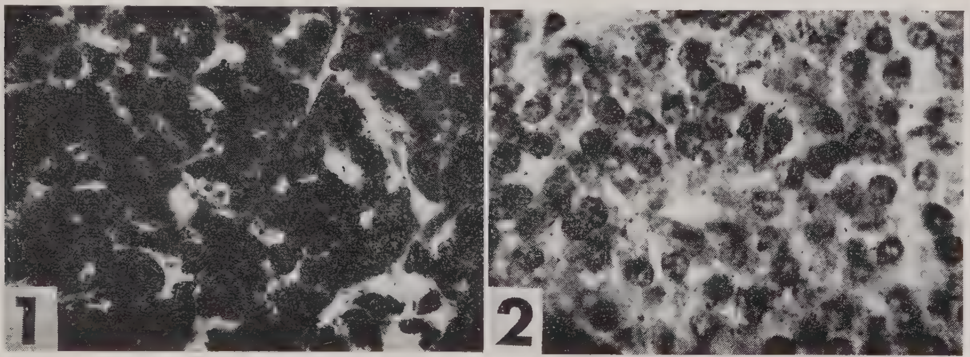


Fig. 1–1. Lipoid droplets in the interrenal cells of *Narke japonica*. Neutral formol fixation, Sudan III and MAYER's acid haemalum stain. ×310.
Fig. 1–2. Interrenal cells of *Heterodontus japonicus*. The black granules indicate the presence of ascorbic acid. DEANE and MORSE technique and MAYER's acid haemalum-eosin stain. ×450.

Ascorbic acid: The principle in technique of DEANE and MORSE adopted is the reduction of acidified silver nitrate to silver by ascorbic acid and also reduced black granules of silver indicate the presence of ascorbic acid. But these granules were not detected in the interrenal cells of teleosts and the interrenal bodies of *Narke japonica*. In the interrenal bodies of two species of elasmobranchs, *H. japonicus* and *T. scyllia*, on the contrary, many black silver granules are observed in the cytoplasm (Fig. 1–2),

Table 1. Results of histochemical examinations on the interrenal cells of various fishes.

		Species	Sudan III stain	SCHULTZ reaction	Test for ascorbic acid
Teleosts	Fresh-water	*Salmo gairdnerii irideus* "Nijimasu"	−*	−	−
		Carassius auratus "Kingyo"	−	−	−
		Cyprinus carpio "Koi"	−	−	−
		Parasilurus asotus "Namazu"	−	−	−
	Marine	*Hexagrammos otakki* "Ainame"	−	−	−
		Chelidonichthys kumu "Hôbô"	−	−	−
		Paralichthys olivaceus "Hirame"	−	−	−
Elasmobranchs		*Narke japonica* "Shibire-ei"	+*	+	−
		Heterodontus japonicus "Nekozame"	+	+	+
		Triakis scyllia "Dochizame"	+	+	+

* + positive, − negative.

thus indicating that these bodies seem to abound with ascorbic acid.

These results obtained are summarized in Table 1.

Discussion

Since early it is well known that the adrenal cortex of mammals contains ascorbic acid and many lipoid droplets, which are said to be mainly mixture of neutral fat and cholesterol. These substances are very labile and display remarkable alteration with the functional change of the adrenal cortex. In general, it is recognized that ascorbic acid, sudanophile lipoid droplets and also cholesterol decrease in the hyperfunction and increase in the hypofunction of the cortical cells. For such fact, DEANE and GREEP[3] supposed that these lipoid droplets are the solvent of the cortical steroid hormones and SAYERS et al[4] believed that the adrenal cholesterol is a direct precursor of the adreno-cortical hormones.

It is fully recognized that interrenal bodies contain many lipoid droplets and cholesterol (ABOIM[5]). This fact was confirmed by the author's investigation. Moreover, ascorbic acid is detected in these bodies of elasmobranchs. Therefore, the interrenal bodies of elasmobranchs are similar histochemically to the adrenal cortex of mammals.

In contrast to these animals, teleosts have histochemically neither lipoid droplets nor cholesterol in the interrenal cells, and these observations agree with the results of RASQUIN[6] in a small fresh-water teleost, *Astyanax mexicanus* and those of PICKFORD[7] in *Fundulus heteroclitus*. As for cholesterol, OLIVEREAU and FROMENTIN[8] also reported that this substance was not demonstrated histochemically in the interrenal cells of European eel, *Anguilla anguilla*. It is also clear from the present work that ascorbic acid cannot be observed histochemically in the interrenal cells of teleosts and this result agrees with those of the above mentioned workers (RASQUIN[6] and PICKFORD[7]).

It is necessary for the histochemical demonstration of cholesterol and ascorbic acid that considerable amounts of these substances are present in the tissue to be examined. Therefore, the above stated results do not always indicate the absence of these substances in the interrenal cells of teleosts. From histochemical viewpoint, however, the interrenal cells of teleosts are unique among the vertebrates, for the lipoid droplets and cholesterol are present in those cells of other vertebrates excluding teleosts. Whether this difference indicates that the hormone secretion is unlike between teleosts and mammals or other vertebrates; this awaits further histophysiological studies.

Summary

The histochemical demonstrations of lipoid droplets, cholesterol or its esters, and ascorbic acid were tried on the interrenal cells of fishes. These substances are present in the interrenal bodies of elasmobranchs, but they are not detected histochemically in the interrenal cells of teleosts.

The author is indebted to Prof. Y. Suyehiro and Assoc. Prof. T. Hibiya for their invaluable advice and encouragement throughout the work.

References

1) Schultz, A.: *Zentr. allgem. Path. u. path. Anat.*, **35**, 314–317 (1924).
2) Deane, H. W. and A. Morse: *Anat. Rec.*, **100**, 127–136 (1948).
3) Deane, H. W. and R. O. Greep: *Amer. J. Anat.*, **79**, 117–145 (1946).
4) Sayers, G., Sayers, M. A., White, A. and C. N. Long: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **52**, 200–202 (1943).
5) Aboim, A. N.: *Portugaliae Acta Biol.*, Sér. A, **1**, 353–383 (1946).
6) Rasquin, P., *J. exper. Zool.*, **117**, 317–358 (1951).
7) Pickford, G. E.: *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.*, **14**, 5–41 (1953).
8) Olivereau, M. and H. Fromentin: *Ann. Endocr.*, Paris, **15**, 805–826 (1954).

STUDIES ON THE LIMNOLOGY OF THE LAKES OF YATSUGATAKE LAKE GROUP—I. OBSERVATIONS ON THE FEEDING HABITS OF THE PLANKTON OF LAKE SHIRAKOMA

Sadami KADOTA*

(Received Dec. 28, 1959)

Introduction

Lake Shirakoma is situated at the foot of Yatsugatake mountain, at an altitude of 2155 m. Though it measures but 0.114 Km^2 in area and 8.55 m in depth its limnological significance is not the least. When the altitude is taken into account it can be said to be a fairly large lake, being the largest of the Yatsugatake volcanic lake group.

TANAKA, A. and E. UENO (1954) studied this lake. In their study, however, they seem to have layed but little stress on the biology, though noting an important fact that despite the presence of little or no phytoplankton in this lake there exists an immense quantity of *Acanthodiaptomus* and *Daphnia*. In the present study now being made of the same lake the author was struck by the same result. However, the above seems to be in no wise a rare instance, being often the case with lakes of high altitude.

During the biological study of this lake I was inevitably led to the inquiry of the food cycle of plankton i.e. the question of what is the food of *Diaptomus* (*Acanthodiaptomus pacificus*) and *Daphnia* (*D. longispina*). The problem is seemingly simple but physiologically it is so suggestive that it soon makes one call to mind Putter's theory of nutrition, which postulates the absorption of dissolved matter from without. Concerning the food habit of plankton W. J. DAKIN (1908), M. V. LEBOUR (1922), and S. M. MARSHALL (1924) made valuable contribution which the present author has referred to.

Before entering the subject the author would like to express his heartiest thanks to Prof. S. KOKUBO under whose kind direction and helpful criticism the present work was carried out.

Method

In the present study a lot of specimens was collected through all seasons of the year 1957. From these specimens 300 individuals or so each of *Diaptomus* and *Daphnia* with their alimentary canal full of food were selected. These individuals were treated in the following way.

* Department of Fisheries, College of Agriculture and Veterinary Science, Nihon University (日本大学農獣医学部水産学科).

(1) Each individual was dissected under a binocular dissecting microscope, and only the alimentary canal was picked off, avoiding fine debris of the dissected body.

(2) The alimentary canal was transferred on to a slide glass, and the content was observed from outside. The position of food and the length of portion where the food is contained were observed from outside.

(3) The above specimens were placed on the stage of the microscope, the content was squeezed out on the slide glass by using a fine dissecting needle. After removing the emptied alimentary canal the number of individuals of food organisms was counted.

(4) Placing a cover glass on the above food material it was examined with a common microscope under a high magnification.

In some cases the same material was examined before and after the staining with neutral red.

As mentioned above the number of specimens used was about 3 hundred. But because of the difficulty of success in taking out the alimentary canal the number of specimens dissected was more than 2,500, the rate of success being less than 15%.

Results

(I) Morphology of the alimentary canal of *Diaptomus* and *Daphnia*.

In *Diaptomus* the total length of alimentary canal is about 77% of the body length, while it is about 95% in *Daphnia*, the latter having a longer alimentary canal than the former.

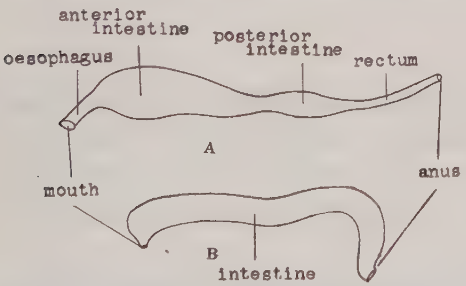


Fig. 1. A, Alimentary Canal of *Diaptomus*; B, Alimentary Canal of *Daphnia*.

As is shown in Fig. 1, A and B, in *Diaptomus* the whole length of alimentary canal can be divided into three parts, i.e. anterior portion, posterior portion, and rectum, with the characteristic that the anterior portion is fairly wide. As to that of *Daphnia* the shape is apparently simple showing no partial development between oesophagus and anus.

(II) Quantity of food taken by *Diaptomus* and *Daphnia*.

Concerning the food study of *Calanus* Dakin's (1908) result shows that not all *Calanus*, captured in townettings, are found with food in the alimentary canal. Of over 3000 *Calanus* examined at Millport 52% contained recognizable food. This percentage varied 20%–70% according to season. In contrast to the above both species of the present experiment all contained food material whether little or more in abundance.

In the present experiment the quantity of food was observed and described to find out in what percentage the content occupied the total length of alimentary canal. For

this purpose 100 individuals of both species were selected from the specimens collected from May to December, in order to assess the above percentage. Of *Diaptomus* the result showed that during summer a moderate quantity of food was found in the anterior and posterior portion of the alimentary canal occupying about 20–30% of the total length. But in no case did the food filled up the total length, in some cases being found in a small mass in each part of the alimentary tract. In process of season, however, from autumn to winter many individuals with food only in the posterior portion were also found. In short the food shows a tendency to decrease with the process of the season, but as to the posterior portion it always contained food even when nothing was contained in other portions.

Taking up the *Daphnia* next a marked difference from *Diaptomus* is seen in the point that in this species, during the season from May to August, the food is found in such an abundance that it occupies over 60% of the total length of the alimentary canal, sometimes exceeding 90%; and also that the quantity of food shows a marked difference according to season. From October on the quantity showed a marked decrease, becoming least by late December. But interesting was the presence of some exceptions which were found containing food in abundance in the alimentary canal.

In Table 1 are shown microscopic figures of the food material found in the alimentary canal of both species, including organisms and other fine debris. Most of these were matter so fine as to be smaller than 20 μ or thereabout. In most cases the proportion of the quantity of these small organisms in total food materials was less than 10%.

(III) Kinds of food matter and its quantity.

In describing the food matter found in the alimentary canal unknown elements other than algae were, for the sake of convenience, classified into five kinds, in the following makeshift terms: (1) Spherical matter, (2) Elliptical matter, (3) Spines, (4) Filamentous and Rod-shaped matter, and (5) Soft debris, each having a name appropriate to its shape.

As will be seen in Table 1 the food of *Diaptomus* is composed for the most part of *Merismopedia*, a kind of *Cyanophyceae* belonging to *Chroococcaceae*, its cells measuring less than 5 μ in diameter. Next to this the following species occurred in moderate abundance, as shown in the following descending order: *Chroococcus*, Spherical matter, Filamentous and Rod-shaped matter, Spines, Elliptical matter, *Dinobryon*, *Cymbella* and *Eunotia*.

In *Daphnia* the food matter contained the spherical matter in the first abundance, second to this the *Chroococcus*, Spines, Filamentous and Rod-shaped matter, *Merismopedia*, *Dinobryon*, Elliptical matter, *Eunotia* and *Cymbella* were found in moderate abundance.

Of the food materials above mentioned the one called soft debris was also found in moderate abundance in some cases. Though the true nature of this substance was

Table 1. Kinds and number of food material in different seasons.

Diaptomus (*Acanthodiaptomus pacificus*) *Daphnia* (*Daphnia longispina*)

	Date	*Eunotia sp.*	*Cymbella sp.*	*Chroococcus sp.*	*Merismopedia sp.*	*Dinobryon sp.*	Spherical matter	Elliptical matter	Spine	Filamentous and Rod-shaped matter
Diaptomus	May 26, '57	—	—	97	—	15	20	2	7	11
	June 19, '57	—	1	209	—	20	14	4	6	18
	July 10, '55	—	—	55	—	3	5	4	19	52
	July 20, '57	—	—	51	133	—	5	3	5	16
	Aug. 3, '57	—	—	22	—	—	29	30	6	6
	Aug. 20, '57	1	4	6	440	—	7	721	14	30
	Sept. 30, '56	—	—	7	42	—	23	4	8	26
	Oct. 28, '55	—	—	—	23	—	20	14	11	22
	Nov. 24, '57	—	—	—	—	—	48	—	5	6
	Dec. 14, '57	—	—	—	—	—	36	—	3	5
Daphnia	May 26, '57	21	6	139	—	110	409	—	9	19
	June 19, '57	1	2	142	—	83	61	83	22	39
	July 10, '55	—	—	8	75	8	10	—	46	40
	July 20, '57	1	—	88	253	5	23	8	232	62
	Aug. 3, '57	—	—	82	—	—	20	35	7	21
	Aug. 20, '57	3	1	—	—	—	6	—	19	63
	Sept. 30, '56	—	—	—	—	—	7	2	5	68
	Oct. 28, '55	—	—	—	—	—	20	11	33	30
	Nov. 24, '57	—	—	—	—	—	24	—	13	13
	Dec. 14, '57	—	—	—	—	—	15	2	11	22

not clear its appearance made the author suspect it to be a debris derived from disintegration of the corps of *Daphnia* and *Diaptomus* themselves. It is highly probable that the debris which is suspended lightly in water is collected by the mouth appendage of *Daphnia* and *Diaptomus*, and is eaten at last.

To find in what abundance the debris is present in water if present at all, the lake water was centrifuged with the result that in water there existed an immense quantity of the debris. From this result the author was led to examine the bottom deposit to see whether it contained the same debris. As expected the deposit contained the debris in high abundance.

On the other hand it was found that in the debris collected by centrifuging the lake water no other matters such as *Trachelomonas*, Spines, and Rod-shaped matter were found, pointing to the conclusion that *Daphnia* and *Diaptomus* feed largely on the bottom materials.

As regards the quantity of the above materials it was found that in *Daphnia*, the Spherical and Elliptical matter, Spines, Filamentous and Rod-shaped matter, and *Eunotia* were found much more than in *Diaptomus* through all seasons. This may, however, be partly due to the high abundance of food matter in *Daphnia* than in *Diaptomus*. And hence the above can not be considered as being due to the difference of food preference in these two species.

In assoiation with the above observation of food materials the author made observations on the plankton and bottom materials then collected, with the expectation that the above food matters had to come from plankton. Unexpectedly, however, no correspondence was found between the plankton and food materials. But instead it was found that the above food matter closely resembled the constituents of bottom materials, except for the fact that *Chroococcus* and *Merismopedia* in bottom materials were a little less than in the food matter. The above finding is remarkable as it led the author to conclude that these species may feed on bottom organisms instead of plankton.

(IV) Size and quantity (number) of food matter.

In the following table the size of organisms was measured in diameter in the case of Spherical or Elliptical matter, and in length in the case of Spine-like or Filamentous matter. The quantity was expressed in number because of the difficulty of measuring the volume. The number given in the upper two lines is the sum of each kind of food matter enumerated in Table 1.

From Table 2 it can be seen that the average size of food particle taken by *Diaptomus* is in a range of 4.0–37.2 μ in length though so long a maximum length of 238.2 μ was found in the case of Filamentous matter. As for *Daphnia* the size of particulate matter was in a range of 2.1–57.0 μ in diameter, the maximum length measured in Spine-like matter was 311.4 μ. These results show that the average size of food matter varies around 50 μ or so, a size exceeding 100 μ being exceptional. And still, when both species are compared in regard to the size of food particles there

Table 2. Total number and size of each kind of food material.

Diaptomus (*Acathodiaptomus pacificus*) *Daphnia* (*Daphnia longispina*).

			Eunotia sp.	*Cymbella sp.*	*Chroococcus sp.*	*Merismopedia sp.*	*Dinobryon sp.*	Spherical matter	Elliptical matter	Spine	Filamentous and Rod-shaped matter
Number (*Diaptomus*)			1	5	447	638	41	207	782	84	192
Number (*Daphnia*)			26	6	459	328	208	595	141	397	377
Size (μ)	Mean	*Diaptomus*	—	20.78	19.70	4.00	29.04	9.10	9.38	37.18	27.76
		Daphnia	24.2	—	10.78	2.09	45.15	12.49	12.84	57.31	32.61
		Diaptomus and *Daphnia*	24.2	20.78	15.24	3.05	37.09	10.80	11.11	47.25	30.19
	Maximum	*Diaptomus*	—	20.76	17.1	5.19	20.38	27.68	—	132.3	238.2
		Daphnia	24.2	—	17.3	4.8	45.15	27.68	41.52	311.4	193.9

seems to be a tendency for *Daphnia* to take a little bigger particle than *Diaptomus*.

In case of marine Copepoda such as *Calanus finmarchicus* the food matter taken by them consists of distinct organisms e.g. Diatoms etc. (Marshall et al, 1955). However, in the present case of *Diaptomus* and *Daphnia* the food matter was not so distinct ones, but consisted of minute and indistinct organisms which do not appear in ordinary plankton.

(V) Feeding ecology of *Diaptomus* and *Daphnia* in relation to season.

Comparing the food matter of both species one will note that through all seasons *Daphnia* takes almost all kinds of food except for *Merismopedia*, while *Diaptomus* takes but few kinds, the difference is observed to be especially marked during the period from May to August. But as to the seasonal change of food quantity both species showed the same tendency that the abundance was highest during June–July, decreasing from late-August on gradually. As regards the relation of food quantity to water temperature it was observed that the quantity increased from early-June on when the water temperature showed 10°C or so. After becoming maximum during summer (June–July) the quantity commenced a gradual decrease with the decrease of water temperature.

It is of interest to note that *Chroococcus*, *Merismopedia* and *Dinobryon* which comprise the major part of food are so small in quantity in plankton that their occurrence and change is not observable. But their quantitative change in food matter is very marked, showing a tendency for *Chroococcus* to occur in highest abundance during May–July, decreasing from mid-August on, and for *Merismopedia* and *Dinobryon* to culminate in July–September and in May–August respectively. Other species too show some degree of seasonal change while some show but little.

Notable is the fact that some of the food organisms are of bottom nature and are never found in plankton (e.g. *Eunotia* and *Cymbella*). This makes the author to conclude that *Diaptomus* and *Daphnia* subsist on bottom organisms. If this is so it follows that majority of these plankton must assemble on the bottom at some time of the day, thus eventually modifying the vertical migration and distribution of the plankton.

(a) **Remarks on the Table 1 and Table 2.** In these tables were shown many spherical and elliptical bodies which sometimes contain some lower forms of *Cyanophyceae* and *Chlorophyceae*. But the state of their cells was so defective that the identification was impossible. Among them, however, there were many tiny spherical bodies which are thought, in all probability, to be a young form of *Trachelomonas sp.* (Pl. 1). As is well known *Trachelomonas* is a bottom form and is found in plenty in the bottom fauna of lakes. As this species never appears in lake plankton the presence of this in food material is also a testimony of their being bottom feeders.

(b) **Remarks on Fig. 2.** Fig. 2 shows the content of alimentary canal of *Diaptomus* and *Daphnia*, in which are contained: *Diatom* and its fragments (B–23, B–29, J–3), *Dinobryon* (A–19, B–17); *Chroococcus* (A–5, E–3, E–4, G–5), *Merismopedia* (C–3, D–9)



Fig. 2. Content of alimentary canal of *Diaptomus* and *Daphnia*.

Diaptomus: (A) 1–13, 19, 20 (May 26, 1957); (B) 1–13 (June 19, 1957); (C) 1–18 (July 10, 1957); (D) 1–6 (July 20, 1957); (E) 1, 2 (Aug. 3, 1957); (F) 2–7 (Aug. 20, 1957); (G) 1–8 (Sept. 30, 1956); (H) 1–4 (Oct. 28, 1955); (I) 1 (Nov. 24, 1957); (J) 5, 6 (Dec. 14, 1957).

Daphnia: (A) 14–18 (May 26, 1957); (B) 14–30 (June 19, 1957); (D) 7–14 (July 20, 1957); (E) 3–5 (Aug. 3, 1957); (F) 1 (Aug. 20, 1957); (G) 9–13 (Sept. 30, 1956); (H) 5, 6 (Oct. 28, 1955); (I) 2–4 (Nov. 24, 1957); (J) 1–4 (Dec. 14, 1957).

and a similar *Cyanophyceae* (A–6, B–26, B–30, D–8, G–4, G–6); smashed appendages of Insects (C–10, D–10, F–1, F–3, F–5, G–10, G–12, G–13, I–1, I–3, J–5, J–6) and empty egg skin of *Diaptomus* eggs (A–15, A–16, A–17, A–12, C–14, D–1).

Summary

(1) The contents of the alimentary canal of *Diaptomus* and *Daphnia* collected from Lake Shirakoma were microscopically observed. The inquiry was of interest because the lake was quite destitude of phytoplankton, and therefore what might be the food stuff of these species was curious and important.

(2) The food of *Diaptomus* and *Daphnia* of this lake consists exclusively of bottom materials which, as a matter of course, contain bottom organisms such as lower *Cyanophyceae*, *Diatoms*, etc. Remarkable was the fact that little or no plankton organisms were found in the alimentary canal of these species.

(3) The food of *Diaptomus* and *Daphnia* was all the same in its constituents. The quantity, however, seemed to be a little more in *Daphnia* than in *Diaptomus*.

(4) As to the size of food particle it was found that the size taken by *Daphnia* is markedly larger (maximum length–311 μ) than that taken by *Diaptomus* (maximum length–238 μ).

However, the mean size of food particle was 50 μ or thereabout, a size exceeding 100 μ (in length) was very rare.

(5) The finding that *Diaptomus* and *Daphnia* largely feed on bottom materials, at least in Lake Shirakoma, suggests the possibility of bottom materials being the cause of the vertical migration of these two species.

References

1) DAKIN, W. J. (1908): Notes on the alimentary canal and food of the Copepoda. Int. Rev. Hydrobiol. Vol. 1, pp. 772–784.
2) LEBOUR, M. V. (1922): The food of plankton organisms. J. Mar. Biol. Ass. U. K. Vol. 12, pp. 644–677.
3) MARSHALL, S. M. (1924): The food of *Calanus finmarchicus* during 1923. J. Mar. Biol. Ass. U. K. Vol. 13, pp. 473–479.
4) TANAKA, A. and UENO, E. (1954): Lakes of Matsubara lake-group. pp. 1–440. Minamisaku Educa- tional Society, Nagano Prefecture, Japan.

Explanation of Plate (I)

Fig. 1. Lake Sirakoma, the south-easterly side.
Fig. 2. Alimentary canal of *Diaptomus*. (×115).
Fig. 3. Alimentary canal of *Daphnia*. (×100).
Fig. 4. *Chroococcus sp.* in alimentary canal. (10.8 μ).
Fig. 5. *Trachelomonas sp.* (indivision) (Maximum diameter, 10.3 μ).
Fig. 6. *Merismopedia sp.* (Length 4.0 μ).
Fig. 7. *Dinoflagellata* ? (Length 9.7 μ).
Fig. 8. *Dinobryon sp.* (Length 41.2 μ).
Fig. 9. *Chroococcus sp.* (Length 13.8 μ).
Fig. 10. Small masses of deposit. (×100).
Fig. 11. ditto, smashed. (×700).
Fig. 12. *Trachelomonas sp.* (indivision) (Maximum diameter, 10.3 μ).
Fig. 13. *Trachelomonas sp.* (14.8 μ in diameter).

Plate I.



STUDIES ON THE EFFECTS OF COPPER DISSOLVED IN SEA WATER ON OYSTER

Masaru FUJIYA*

(Received Dec. 23, 1959)

Introduction

The wastes thrown away from the refineries and other metallic factories often make the harmful effects to marine organisms. The coastal area of Seto Inland Sea of Japan is in the highest rank of oyster production to which the water pollution troubles related to the industry have arisen from the wastes. Oyster is one of the most important fisheries' products and it is undesirable for the fisheries industry in Japan that the trouble would raise frequently. Unfortunately, the oyster culture grounds established near the refinery have been affected by the waste, occasionally. It is said that the concentration of copper dissolved in the waste thrown away from the refineries might be about 5–30 mg/L., and in the waster influenced by the waste might be about 50–300 $\dot{\gamma}$/L. at the coastal area, where the water pollution troubles to oyster occurred occasionally. On the other hand, the effects of the waste to oyster had some differences according to the quantity of copper in the water. It caused lethal effect under high concentration of copper, a poor development of the bivalve under low concentration, and in addition oysters might deposit the copper to become "Green oyster" which might be harmful to human health, as a food material. Thereupon, I studied biologically on the harmful effects of the waste contained copper compound to oyster and to the Oyster Industry.

Methods

The three methods were used to estimate the effects of copper in the sea water to oyster, because there are three problems which are considered as the most serious ones. They are, on the lethal effect, on the toxicity to oyster and on the effects under low concentration.

On the determination of TLm value, as a method to estimate the lethal effect:

The usual bioassay method for the evaluation of acute toxicity by P. DOUDOROFF[1] was used to determine TLm value in this experiment. Several kinds of test water were made under a certain series and set into glass aquaria of 10 litre capacity, and 10 sample oysters for each aquarium were exposed to the water in it. After 96 hrs., the mortalities of these oysters in the aquaria were observed to estimate TLm value of

* Inland Sea Regional Fish. Res. Lab., Ujina, Hiroshima, Japan. (内海区水産研究所)

copper to oyster. In this experiment, the aquaria were set in running water to keep a certain temperature, 10°–12° C, and also the test water in the aquaria were changed at intervals of 6 hrs. to avoid unacountable troubles which might disturbe the proper relationship between copper and oyster. After several experiments were tried preliminarily, the final full scale test was designed under the series as follows;

Control, 1.0, 1.5, 2.3, 3.4 ppm/Cu

Copper was added in the form of Copper sulphite.

Chlorinity of the sea water used was 16.20–16.50‰ and pH was 8.2.

On the toxicity of copper to oyster:

Generally, if any organism is under chronic influence of a toxic substance it is affected and we should be able to estimate the toxicity of the substance if we can determine the toxic syndrome through experimentation. The histo-pathological and cyto-chemical methods which were applied here might be the most valuable for such purpose.

The observations of the effects were done as follows;

The meat of the oyster immersed in the aquaria contained the mixed water with small quantity of copper (0.1–0.5 ppm) for 2 weeks were cut in round slices and fixed in Carnoy's fluid. After that, they were prepared to samples for microscopic observation under the usual way. Staining was done by the ways as follows;

1) Periodic acid and Schiff reaction of McManus-Lillie for polysaccharide.

2) Pyronin-Methylgreen staining of Kurnick for RNA (Ribose Nucleic Acid) and DNA (Desoxyribose Nucleic Acid).

Besides, the digestive diverticula, the stomach and the intestine also observed in this experiment, and these were respectively compared between normal and affected conditions.

On the effects of copper of low concentration:

Shell-fish in general and oysters in particular often absorb and deposit metallic materials in the meat, even if the concentration in the environmental water is small. If the oyster has much copper in its meat, there is not only a depreciation in economical value, but also the oysters are harmful to persons who eat them. Studies were done on the relationship between the quantity of copper in the water and that deposited into oyster.

The experiments were done as follows;

The oysters were cultured in the waters mixed copper as a form of copper Sulphite to make a few different concentrations—0.5, 0.25, 0.13 ppm/Cu—, and the samples were picked up to be analized the contents of copper in their meat every three days. The copper in the oysters were detected with the flame photometrical method by the spectro-photometer.

Results

On the determination of TLm value:

I estimated the TLm value of copper in the water through the results of the full scale test as shown in Table 1. According to these results, the TLm value estimated through straight line of graphical interpolation, which is shown in Fig. 1, was 1.9 ppm under 10°–12° C. of water temperature for 96 hrs. However, this value shows only the lethal effect of copper added in the water on oyster and it may be questionable whether it shows the TLm value of dissolved one in the water or not. Nevertheless, it may be doubtless that lower concentration of copper than the value evaluated through this experiment does not make the lethal effect to oyster.

Table 1. Observation results as to oyster reactions, to the experimental sea water contained copper in various concentrations.

3.4 ppm—All oysters dead in 96 hrs.
2.3 ppm—3 of 10 oysters survive 96 hrs.
1.5 ppm—7 of 10 oysters survive 96 hrs.
1.0 ppm—All oysters survive 96 hrs.
Control—All oysters survive 96 hrs.

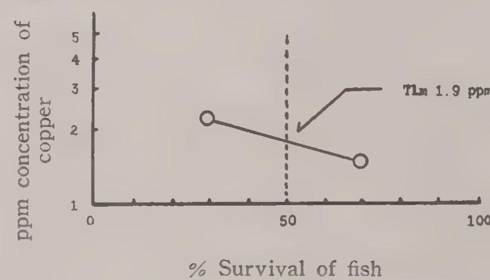


Fig. 1. Graphical interpolation for estimating TLm.

On the toxicity of copper to oyster:

Before the results obtained are set forth, the general structure of internal organs observed in this experiment should be explained here.

1) Digestive diverticula.

This organ has usually brown color and is situated at the central part of the body surrounding the stomach, and is called the Mid-gut sack as an another name. Though, in the past, it was considered as the liver, hepato-pancreas or a kind of digestive glands, at present it is believed to be a part of digestive system of oyster. On the other hand, the tissue of normal oyster has so much RNA and much polysaccharide. Especially, I have found that the quantity of RNA in the tissue of this organ seems to correspond to that of fish pancreatic tissue, and also oyster concentrates RNA in this organ and there is only its small quantity at other parts of the body. The polysaccharide of oyster may distribute all over the body except this organ. Therefore, I estimated that this organ may have a physiological function as a pancreas, and is sure the most important part for growth of oyster at least.

2) Stomach and Intestine.

Although there are some differences in comparison with other animals classified in higher ranks than oyster, there is nothing to mention specially on the structure of the stomach and the intestine.

As the results of this experiment which was operated under the way above mentioned, I was able to find out histo-pathologically a dissociation and regressive change of digestive diverticula tissue, desquamation and necrosis of stomach epithelia in the oyster cultured in the water mixed copper of 0.1–0.5 ppm for 2 weeks, as shown in plate I, and these were remarkable symptoms in this experiment. On the other hand, it was the results of cyto-chemical observation on the digestive diverticula of the oyster that RNA and polysaccharide in it were on the decrease.

On the effect of copper of low concentration:

As mentioned already, this experiment was done to estimate an ability of oyster to deposit copper into its meat. The sample oysters cultured in the water of 0.5 ppm have finally the copper of 2,000 γ/g.-wet weight, in 0.25 ppm 1,900 γ/g.-wet weight and in 0.13 ppm 1,500 γ/g.-wet weight in each meat of the oyster, while the oysters cultured in normal water have only 100 γ/g.-wet weight as shown Fig. 2. In addition, it was observed that the velocity of copper-deposition by oyster in the water of higher copper concentration was larger than that in lower concentration.

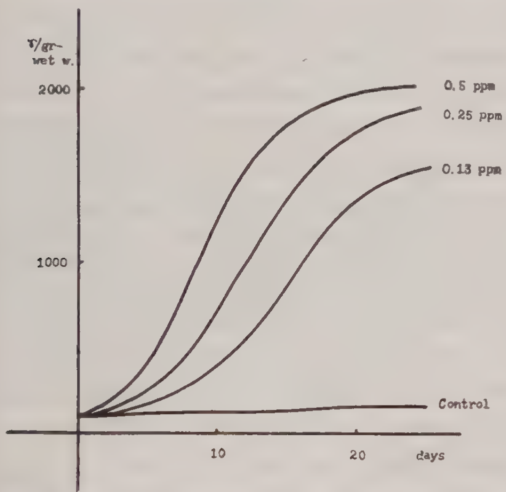


Fig. 2. The relationship between periods and copper contents absorbed into oyster.

Discussion

According to the results obtained, there may be estimated the effects of copper to oyster from the several points of view. There are many complicated phenomena of nature on the relationship between copper compounds and sea water, for instance Harvey set forth in his publication[2] that the solubility of cupric ions (cuprous are rapidly oxidized to cupric) in sea water is limited by the solubility of the green oxy-carbonate, which gradually changes to blue-green-coloured basic carbonate. The solubility of the basic carbonate in sea water of pH 8 lies in the region of 180 mg. Cu per m.^{3} and is much greater at pH values below 7. When metallic copper is placed in sea water, cuprous ions are discharged, and are rapidly oxidized to cupric resulting a supersaturation, which may attain temporally to a concentration of 2,000 mg. cupric Cu per m.^{3} Then, even if the waste having much copper dissolved would be thrown away into sea water from a refinary, the content of copper in the receiving water will be lower than 2 ppm in any case because pH value of sea water seldom or never goes down below 7, and also the copper dissolved in the water must be cupric ions. Although the content of copper in sea water which would make the lethal effect to

oyster is estimated approximately to be 2 ppm from the result of TLm value in this experiment, I might assume it will be an unusual case in actual that the wastes thrown away into coastal areas from the refineries will have a chance to make the lethal effect to oyster, except the near-by places of the outfalls. I observed histo-pathologically and cyto-chemically several harmful effects on the oyster cultured in the water mixed copper. The dissociation, the regressive change of digestive diverticula which were observed in this experiment might be finally the origin of death. Besides, it is sure that the decrease of RNA observed in the tissue will make the serious effect on the growth of oyster. Because, J. Brachet explained in detail on the function of RNA[4], —according to the evidences reported by many persons, he emphasized the physiological function of RNA is concerned with protein synthesis and also RNA has high ability to synthesize some kinds of protein in living organisms, and decreasing of RNA in the body means the decline of the ability for protein synthesis. By the estimation above mentioned, the oyster cultured in the coastal area where may be often influenced by the waste thrown away from the refineries would not lose their lives, but take a poor development on their growth. So, it is quite sufficient on the effects of the waste to oyster in physiology to consider only a poor development of the growth in actual case, without the aquicultural grounds located near-by the outfalls of the refineries. It is said generally there are so many "Green oysters" in the coastal area near the refineries, the oysters make a poison to human who take them. And also, it is reported that these oysters have much copper in their bodies[3]. I was able to find out through this experiment the oysters cultured in the water mixed copper, even if the concentration of copper would be as low as 0.5, 0.25, 0.13 ppm, become to the "Green oyster" and also deposited much copper in the bodies. After the papers published up to the present, the contents of copper in the "Green oyster" is about 3.8–17.2 mg./g.-dry weight, which would be able to estimate about 0.8–3.4 mg./g.-wet weight (for the moisture of oyster meat is about 70–80%), while in my experiment it was about 2 mg./g.-wet weight in each case, and it takes about 3 weeks to deposit such contents in its meat. It may be doubtless that such "Green oyster" is unfit for a food material, and it is worthy of notice that such condition is made within a short period of 3 weeks.

Thus, the conclusion on the effects of copper being thrown away from the refineries and other metallic factories into the wastes to oyster is that the death of oyster by the wastes would not be made directly, but the physiological function would be influenced to lose their lives in actual case.

Summary

1) The effects of copper on oyster were studied, in vitro, since there are many water pollution troubles on the wastes included copper compound in Japan, recently.

2) The TLm value for 96 hrs. of copper to oyster was estimated 1.9 ppm, and there is no lethal effects on oyster actually, except the places near-by outfalls.

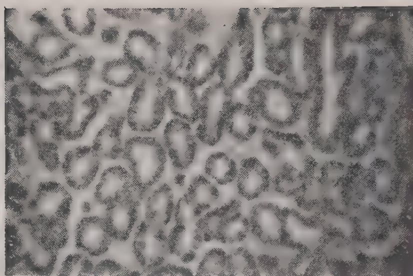
3) A dissociation and regressive change of digestive diverticula and desquamation and necrosis of the stomach epithelia were observed, histo-pathologically. On the other hand, the decrease of RNA was observed, cyto-chemically. Then, it was assumed that a poor growth of the organism would be made by the waste.

4) It was estimated that the oyster cultured in sea water mixed small quantity of copper deposited much copper in the bodies, and became unfit for a food material.

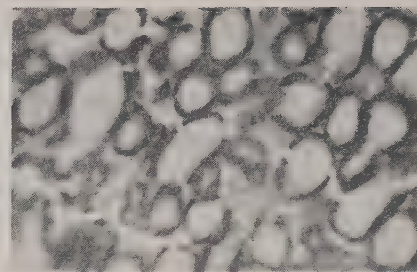
References

1) DOUDOROFF, P., et al: "Bioassay method for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish." *Sewage and Industrial Wastes.* **23**, (11) 1380–1397 (1951).
2) HARVEY, H. W.: The chemistry and fertility of sea waster (1955). Cambridge University Press.
3) TAGA, N.: "Survey on water pollution by the wastes from Hitachi mine.—I." *Bulletin of Fisheries Experimental Station of Ibaraki Pref.* pp. 87–92 (1954–55).
4) BRACHET, J.: Biochemical cytology (1957). Academic Press Inc.
5) HENDERSON, C.: "Application factors to be applied to bioassays for the safe disposal of toxic wastes." *Biological Problems in Water Pollution.* pp. 31–37 (1957). U. S. Department of Health, Education and Welfare.

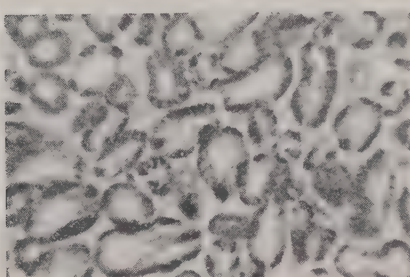
Plate I.



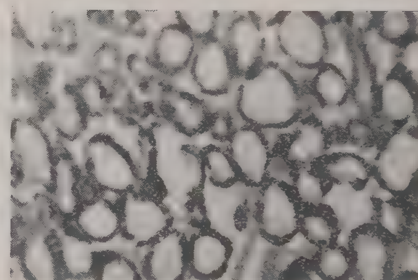
Normal



0.3 ppm



0.1 ppm

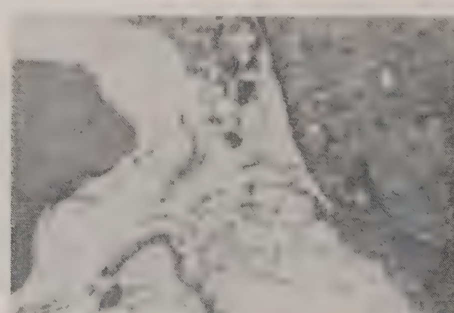


0.5 ppm

Pyronin-Methylgreen staining

Changes of oyster digestive deverticula affected by copper ion.





Periodic acid and Schiff staining

Desquamation and Necrosis of oyster stomach epithelia affected by copper ion.

海水中の懸濁質に関する研究—IV.

懸濁質係数と消散係数および濁度との関係

花岡　資・古川　厚・野上和彦

(1960 年 1 月 5 日受理)

STUDIES ON SUSPENDED MATTER IN THE SEA—IV. ON THE RELATION BETWEEN SUSPENSION FACTOR, EXTINCTION COEFFICIENT AND TURBIDITY.

Tasuku Hanaoka, Atsushi Furukawa and Kazuhiko Nogami*

The authors previously reported an equation $\mu = aT^{-b}$, where μ is extinction coefficient of incident light into a suspension, T visible transparency depth of Secchi-disc and a, b constants.

"a" can be an index of the particle size, as far as "b" remains to be a certain value though it varies by the quality of suspended material. In the sea water, the value of b was recognized to be 0.3 in neritic and even in oceanic waters.

So "a", the suspension factor, of various sea regions can be comparable to each other and is observed to be a good indicator of the condition for the growth of filter-feeders there, and recently a–Cl number, combined "a" value with Cl ‰, was showed to be a better index for it.

When T can't be observed, "a" is obtained as follows from the values of μ and τ, Turbidity, in situ.

Generally in the suspensions of such particles as their size is of the same order to the wave-length of incident-light or slightly larger, there is a relation $\mu = kS^{\alpha}$, where S is the concentration of particles, α is a constant, 0.2 in sea waters, neritic and oceanic, and k a parameter which varies with the value of "a", according to the relation $k = 0.64a - 0.055$.

While theoretically there is a relation $\tau = \gamma S$, where γ is a parameter which varies with the particle diameter.

From these two eqs. we can obtain $\mu = k'\tau^{0.2}$, wrere $k' = k\gamma^{-0.2}$. This relation was recognized to be in good fit with many data hitherto obtained actually by assuming $k' = 0.72a - 0.04$.

And we obtain $a = 1.38\mu\tau^{-0.2} + 0.056$
according to which "a" can be obtained even by layers in the sea from μ and τ without T.

Applying the value of γ computed theroretically by Burt under the condition that the wave-length is 550mμ and refraction coefficient between particle and water 1.15, the diameters of particles by "a" values were tried to obatin from the eq.

$$\gamma = \left(\frac{0.64a - 0.055}{0.72a - 0.040}\right)^5,$$

resulting the diameters of 2～5μ in usual bay-waters in Japan, as shown in figures.

著者等は前に[1]，水中に懸濁する粒子の径が光線の波長と同じかあるいはそれより幾分大きいような場合には，一般に

$$\mu = aT^{-b}$$

ここに　μ: 透入した光の消散係数，T: Secchi-Disc による透明度の深さ，a, b: 常数

が成立し，b は粒子の質によつて異る値をとるが，b が一定の場合は a はその粒子の径の index になること，さらに海の場合には $b = 0.3$ として汽水域から沖合水まで適用して矛盾を生じないことが認められ，し

* 内海区水産研究所 (Inland Sea Reg. Fish. Res. Lab.).

たがつて a は海の場合直ちに比較して粒子の大小を推定できることになることを示した。懸濁質係数 (Suspension factor) と名付けたこの “a” の値は海の filter feeder の成育地のよい標示になるものであつて，さらに最近，これと Cl ‰ とを組合せた a-Cl 係数で，一層よく適地を判定できることが示された[2]。

この懸濁質係数 “a” は μ と T とを知ることにより直ちに求め得るが，Secchi-Disc が底に届いてしまつて T が求め得られない時，あるいは水域を立体的に観察したい時にはこの方法では不可能である。その際には水中濁度計を併用すればよいのであるが，前報に記した a と μ ならびに濁度 τ との間の関係式は統計的近似式であり，理論的には不合理な点があるので今回これを訂正したい。

懸濁物の密度 S と濁度 τ* との間には，理論的に $\tau=\gamma S$ が成立する。ここに γ は粒子径 (r) の大いさによつて異なる値をとる[3]。

一方，実験的に各種懸濁物液で一般に $\mu=kS^{\alpha}$ が成立し，海の場合には $\mu=kS^{0.2}$ (S: mg/l, μ はメーター当り) が適用できることを発表した[1]。k は懸濁質係数 “a” の函数で，

$$k=0.64a-0.055$$

である。(前報の値とやや異る。その後広範囲の資料によつて検討し，この値を適用することにした。)

上記 2 式から $\qquad \mu=k(\tau/\gamma)^{0.2}$

すなわち $\mu=k'\tau^{0.2}$ が求められる。ここに k' は粒子径の函数である**。

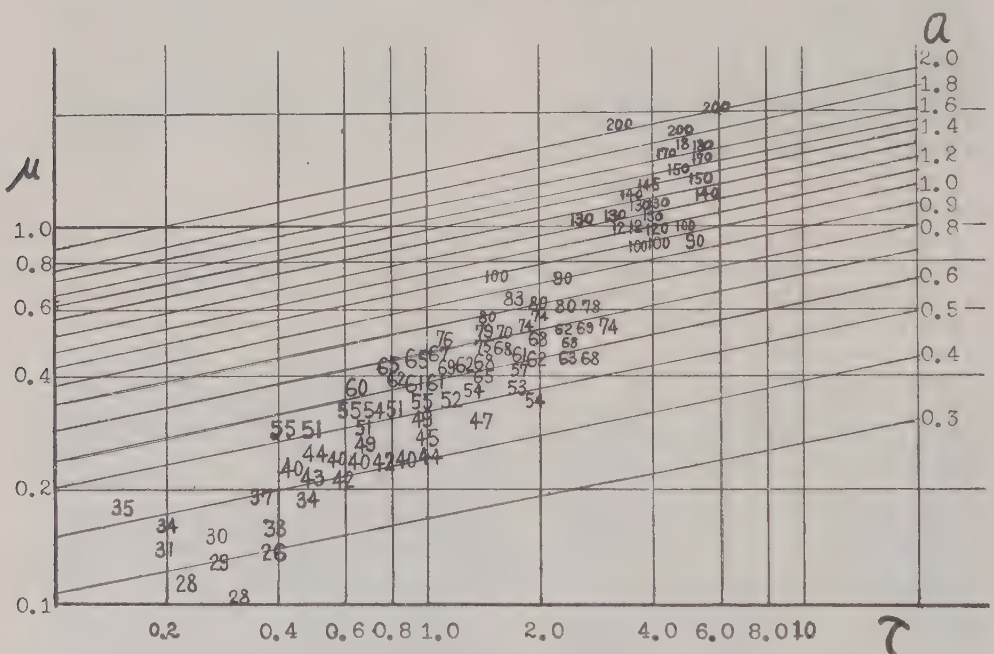


Fig. 1. Relation between extinction coefficient (μ), turbidity (τ) and suspension factor (a). Each number is the observed value of “a” at the station having the corresponding values of μ and τ.
(35, 120 etc. denote the value of a 0.35, 1.2 etc.)

* $\tau=\dfrac{2.3(\log I_0-\log I_a)}{d}$ $\qquad d$: 濁度計の light-path
I_0, I_a: はそれぞれ蒸溜水，試水の場合の光度

** 既知量 paraffin の懸濁液（融点 48°C の paraffin とその 18% の乳化剤 Nissan-Dispernol との混合液に 90°C の蒸溜水を攪拌しつつ加えて作成したもの。著者等の場合，粒子径は 8μ 前後であつた）での実験で $\mu=kS^{\alpha}=k'\tau^{\alpha}$ の関係が実際に成立していることが認められ，この場合 $k=0.174$, $k'=0.186$, $\alpha=0.37$ であつた。この懸濁質溶液作成について御教示を得た日本油脂 K. K. 研究所今井所長ならびに吉井氏に深謝申上げる。

従来得た多くの観測資料をこれによつて整理すると，上式は

$$k' = 0.72a - 0.04$$

でよく観測値と合致することが認められる。すなわち

$$\mu = (0.72a - 0.04)\tau^{0.2}$$

ゆえに

$$a = 1.38\mu\tau^{-0.2} + 0.056$$

これによつて T を得られぬ時にでも，水中照度計および濁度計を使用して，μ および τ を測ることにより，a を求めうるし，また層別に立体構造を見ることもできる。

なお，W. V. BURT[3] が海水中の懸濁物について理論的計算を行なつた際の条件，すなわち，光線は 550 mμ とし，粒子と海水との間の屈折係数を 1.15 とした場合の γ の値を使つて "a" と粒子径の関係を出してみると以下のようになる。この際 550mμ の波長は，われわれが実際に観測する時使用している filter の感光曲線の mode とほぼ一致するから，そう大きな誤差は生じないと考えられるが，屈折係数については日本の湾内水について測定されたことがないので何ともいえない。

前掲の式　　　　$\mu = k(\tau/\gamma)^{0.2}$

および実測による　$\mu = k'\tau^{0.2}$　より

$$k\gamma^{-0.2} = k'$$

すなわち

$$\gamma = \left(\frac{k}{k'}\right)^5 = \left(\frac{0.64a - 0.055}{0.72a - 0.044}\right)^5$$

が得られる。

いろいろの "a" の値に対して求めた右辺の値を BURT の計算によるいろいろの半径 (r) に対する γ の値と対比すると，Fig. 3 のようになる。

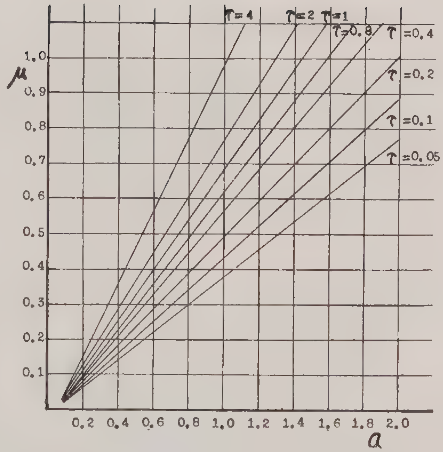


Fig. 2. Relations between μ and "a" for different values of τ.

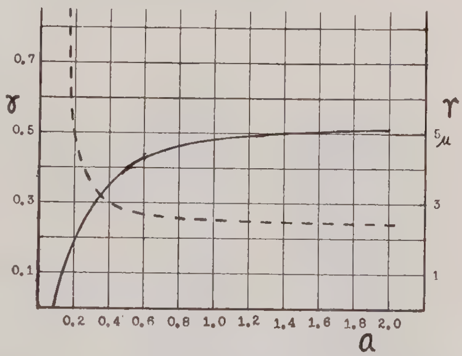


Fig. 3. Relation between "a" and r, mean diameter of suspended matter, (dotted curve), computed through the relation between "a" and γ (thick curve), obtained theoretically by Burt.

すなわち a が 0.2〜2 の範囲で r（平均の粒子径）は 2.4μ〜5μ の範囲になり，BURT が推定した Plymouth E_1 点の水のもつ粒子径，また JERLOV[4] の Adriatic Sea での値 2〜5μ と同じ大いさを示すことになる。

本研究費の一部は文部省科学研究費によつた。ここに謝意を表する。

参 考 文 献

1) 花岡・古川・野上： 海水中の懸濁質に関する研究—(I)，懸濁質係数とその意義，本誌，**22**，213〜219 (1956).

2) 古川・野上・久岡・篠岡： 三重県下主要真珠養殖場予備調査結果について，内水研報告，12 (1959).

3) BURT, W. V.: On the attenuation of light in the Sea. J. Mar. biol. Ass. **36**, 223〜226 (1957).

4) JERLOV, N. G.: Adriatic Thalassographie Cruise 1955 II. Distribution of suspended material in the Adriatic Sea. Estratto Dall' Archivio di Oceanografia e Limnologia, XI–Fascicolo 2 (1958).

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの漁況経年変化の原因について—V.

卓越年令群の出現と，産卵および稚魚育成海域における表面水温との関係

中 込 淳

(1960 年 1 月 18 日受理)

ON THE CAUSE OF ANNUAL VARIATION OF FISHING CONDITION OF BIGEYED TUNA IN THE AREA FROM MARSHALL ISLANDS TO PALMYRA ISLAND—V.

RELATION BETWEEN APPEARANCE OF DOMINANT AGE GROUP OF BIGEYED TUNA AND SURFACE WATER TEMPERATURE IN SPAWNING AND LARVAE CULTIVATED AREA

Jun NAKAGOME*

I have studied to compare on undermention between 1950 and 1954 when dominant age groups of bigeyed tuna were spawned and 1951～1953 and 1955～1956 when non-dominant age groups of the fish were spawned.

a) mean surface water temperatures in low temperature period and those in high temperature period.

b) differences of mean surface water temperature between low temperature period and high temperature period of the years.

c) differences of mean surface water temperature between high temperature period and low temperature period of the next years.

d) differences of surface water temperature between January and lowest temperature month.

As the result, I could know that differences of mean surface water temperature between low temperature period and high temperature period of the year in 1950 and 1954 differ from those in 1951～1953 and 1955～1956; those in 1950 and 1954 is low and those in 1951～1953 and 1955～1956 is high.

緒 言

著者は，先に，漁獲率の経年変化が卓越年令群の出現によつてもたらされたことを報告した[1)]。しかるに，魚類の一生において最も斃死率の高い時期は，臍嚢を吸収し終つて摂餌を開始したばかりの仔魚後期の始まりである[2)]。メバチの産卵から孵化して臍嚢が吸収され終るまでの期間は未だ明らかにされていないが，1～3 ヶ月程度であると考えられるので[2)]，メバチの卓越年令群の産卵された年の環境と，他の年の環境との関係を調べることにより，メバチの漁況経年変化の原因を掴むことが考えられる。

そこで，卓越年令群の出現と，産卵および稚魚育成海域における表面水温との関係について調べたところ二，三の結果が得られたので報告する。

発表を許され，御指導，御教え下さつた神奈川県水産試験場永井・大場技，英文摘要の作成に当り御

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa).

指導下さつた同場漁業指導科河口喬太郎科長に対し衷心より謝意を表する。

資料および方法

年令組成の経年変化は前報告[1]より引用，産卵および稚魚育成海域である赤道反流域[3),4)]すなわち 5～10°N, 160～180°W の海域[5]における 1952～1959 年の各月の表面水温は，前報告[6]の資料を分析して同海域のもののみ抽出し，それを航海毎に平均した後さらに月毎に平均したものである。1950 年 7, 8 月と 1951 年 1～3 月および 10 月の資料は Biological Laboratory Hawaii Area 所属船の調査結果[7),8)]のうち，同海域に属するものを抽出し，月毎に平均したものである。

低温期または高温期における表面水温は，同海域の表面水温の周年変化 (Fig. 1) において，低温期（年の前半）と高温期（年の後半）がみられるので，各月の平均水温を各年の低温期または高温期 (Table 1) 毎に平均したものである。

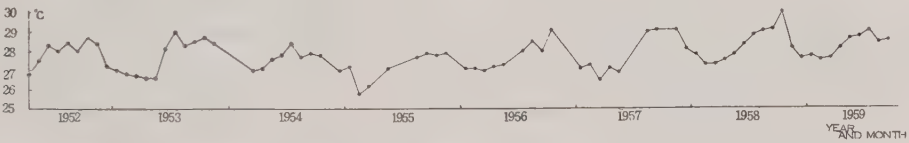


Fig. 1. Monthly variation of surface water temperature in the area of Lat. 5～10°N, Long. 160～180°W.

Table 1. Periods of low surface water temperature and of high surface water temperature.

Year	Period of low S. W. T.	Period of high S. W. T.
1952	Apr. 1952	June 1952 – Nov. 1952
1953	Dec. 1952—May 1953	June 1953—Nov. 1953
1954	Mar. 1954—June 1954	Aug. 1954—Oct. 1954
1955	Dec. 1954—May 1955	Aug. 1955—Nov. 1955
1956	Jan. 1956—May 1956	July 1956—Oct. 1956
1957	Jan. 1957—May 1957	Aug. 1957—Nov. 1957
1958	Dec. 1957—June 1958	July 1958—Oct. 1958
1959	Nov. 1958—Apr. 1959	May 1959—Sep. 1959

結果および考察

年令組成の経年変化 (Fig. 2)[1] において，1957 年 10 月～'58 年 9 月の卓越年令群は 4 年魚と考えられるので[9),10)]，この年令群は 1953 年 10 月～'54 年 9 月に産卵されたもの，同様に，1953 年 10 月～'54 年 9 月の卓越年令群は 4 年魚と考えられるので[9),10)]，この年令群は 1949 年 10 月～'50 年 9 月に産卵されたものと考えられる。

しかるに，5～10°N, 160～180°W の海域におけるメバチの産卵は周年同じ程度で行われると考えられていたが[11),12)]，その後季節変化のあることがうかがわれ[13),14)]，1, 2 月と 7～10 月に主に行なわれることが報告された[13]。もし産卵が周年同じ程度で行われているものとすれば，好漁期が 1～6 月であるので[15]，漁獲率の高低が魚群量の多少を表わすものとすれば，1 年のうち 1～6 月の産卵量が最も多いと考えられる。また，1, 2 月と 7～10 月に産卵が主に行われているものとすれば，同様に 1, 2 月の産卵量が最も多いと考えられるが，7～10 月に産卵され

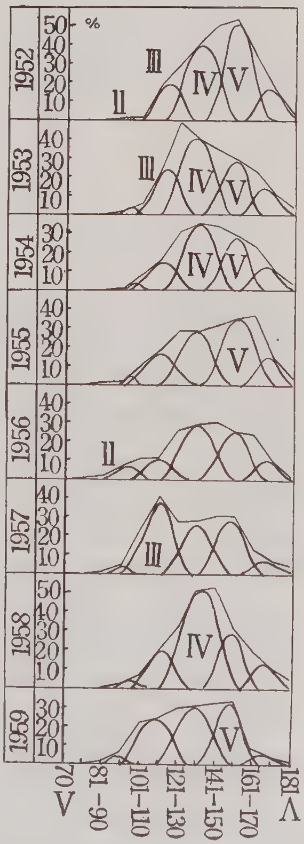


Fig. 2. Age frequency of bigeyed tuna in each area.

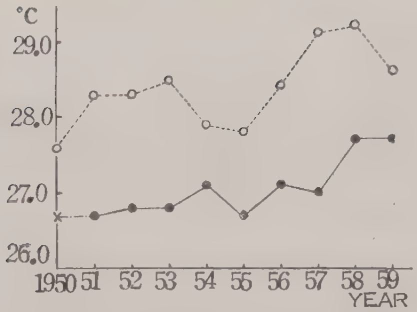


Fig. 3. Annual variations of surface water temperature in period of low surface water temperature and high surface water temperature.
——●—— period of low surface water temperature
---○--- period of high surface water temperature

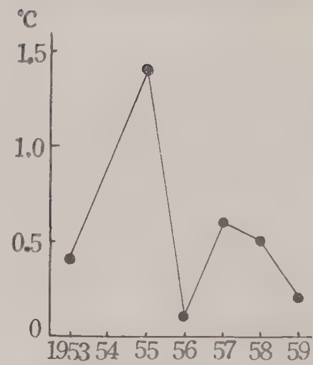


Fig. 5. Annual variation of difference between surface water temperature in January and that in lowest surface water temperature month.

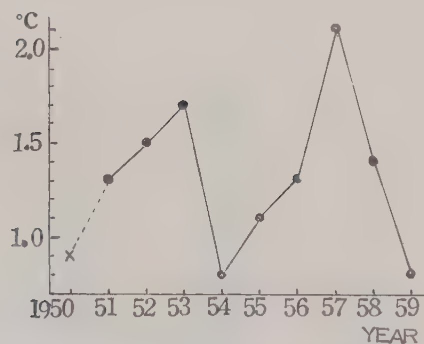


Fig. 4. Annual variation of difference between surface water temperature in period of high surface water temperature and that in period of low surface water temperature of the year.

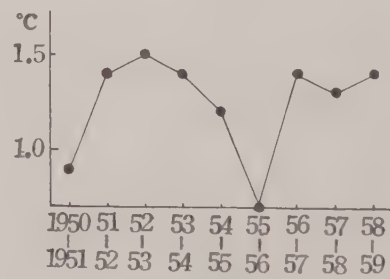


Fig. 6. Annual variation of difference between surface water temperature in period of high surface water temperature period and that in period of low surface water temperature of the next year.

たものについても考慮をはらう必要がある。

そこで，1～6 月および 1，2 月に主に産卵が行われる場合を考えて，低温期における平均表面水温の経年変化 (Fig. 3)，その年の低温期の平均表面水温と高温期の平均表面水温との水温差の経年変化 (Fig. 4)，および 1 月の表面水温とその直後に訪れる最低表面水温との水温差の経年変化 (Fig. 5) について調べ，7～10 月に主に産卵が行われる場合を考えて，高温期における平均表面水温の経年変化 (Fig. 3)，および高温期の平均表面水温と翌年の低温期の平均表面水温との水温差の経年変化 (Fig. 6) について調べた。

まず，低温期の平均表面水温は調査の対象範囲の 1950～1956 年において，卓越年令群の産卵された年と考えられる 1950，1954 年と，非卓越年令群が産卵された年と考えられる他の年との間に差がみられず，また，高温期の平均表面水温は，1950，1954 年に特に低くなっているが，1955 年も低いので，1950～1956 年において，1950，1954 年と他の年との間に差がみられるとは考えられない。

つぎに低温期の平均表面水温と同じ年の高温期の平均表面水温との水温差についてみると，つぎのようなことが考えられる。すなわち，1950 年の高温期の平均表面水温が 1950 年以後における最低の水温を示しているが，同年の低温期の平均表面水温が解らないため，同年の低温期と高温期との水温差は明らかではない。

しかし，低温期の平均表面水温は 1951 年から 1953 年までほぼ一定であるので，1950 年の低温期の平均表面水温が 1951 年の低温期の平均表面水温より特に低い可能性はきわめて小さい。そこで，1950 年の低温期の平均表面水温を 1951 年の低温期の平均表面水温と同じ値であると仮定すると，1950 年における低温期と高温期との水温差は非常に小さくなる。したがつて，同水温差は 1950，1954，1959 年に小さいと考えられ 1950～1956 年において，1950，1954 年と他の年との間に差がみられる。

また，1 月の表面水温とその直後の最低表面水温との水温差は，1956，1959 年に低く，1953, 1957, 1958 年に中程度，1955 年に高いので，1950～1956 年において，1950，1954 年と他の年との間に差はみられない。

最後に，高温期の平均表面水温とその翌年の平均表面水温との水温差をみると，1950～'51 年と 1955～'56 年が低く，1950～1956 年において，1950，1954 年と他の年との間に差は考えられない。

すなわち，1950, 1954 年の低温期の平均表面水温と高温期の平均表面水温との水温差の小さかつたことが，卓越年令群の出現をもたらしたとは考えられないが，1，2 月または 1～6 月の産卵量が最も多い点からも，卓越年令群の出現と何らかの関係のある可能性が考えられる。

なお，近年，能勢外[16]は IVERSON の成長曲線と異なつた成長曲線を報告しており，同報告によると，1958 年の卓越年令群は 9 年魚ということになるが，同海域における 1949 年以前の表面水温の資料がないため，次回に究明することとする。

摘　　要

マーシャル，パルミラ諸島周辺におけるメバチの卓越年令群の産卵された年と，非卓越年令群の産卵された年との間で，産卵および稚魚育成海域における低温期と高温期の各平均表面水温，低温期の平均表面水温と同じ年の高温期の平均表面水温との水温差，1 月の表面水温とその直後に訪れる最低表面水温との水温差，および高温期の平均表面水温と翌年の低温期の平均表面水温との水温差を比較したところ，低温期の平均表面水温と同じ年の高温期の平均表面水温との水温差において差がみられた。

文　　献

1) 中込　淳： 本誌，**26**，5 (同報告 IV)，1960.
2) 末広恭雄： 魚類学 pp. 99, 96，岩波書店，1952.
3) 木川昭二： 南海区水研報告 5，1957.
4) 矢部　博・上柳昭治・木川昭二・渡辺久也： 南海区水研報告 8，1958.
5) Hydrographic Office of Navy Department: Pilot Chart of the North Pacific Ocean, July 1958～June 1959, 1958 and 1959.
6) 中込　淳： 本誌，**26**，5 (同報告 III)，1956.
7) TOWNSEND CROMWELL: Special Pacific Report, Fisheries No. 131, Mid-Pacific Oceanography II, 1954.
8) THOMAS S. AUSTIN: Special Pacific Report, Fisheries No. 131, Mid-Pacific Oceanography III, 1954.
9) IVERSON E. S.: Special Scientific Report, Fisheries, No. 162, 1～40, 1955.
10) 神奈川県水試，鮪漁業研究会： 鮪漁業 37，p. 13，1957.
11) 中村広司： マグロ類とその漁業，竹内書房，p. 14，1949.
12) 木川昭二： 南海区水研業績集 1，1953.
13) HEENY S. H. YUEN: Special Scientific Report, Fisheries, No. 150, 1955.
14) 木川昭二： マグロカジキ類の生態，現在までに得られた知見について，1960.
15) 中込　淳： 本誌，**24**，8，1958.
16) 能勢幸雄・川津浩嗣・檜山義夫： 水産学集成，1957.

STUDIES ON THE ADRENAL GLANDS OF TELEOSTS—V. EXPERIMENTALLY INDUCED HISTOLOGICAL ALTERATIONS IN THE INTERRENAL CELLS OF FISHES*

Mikio OGURI**

(Received Jan. 18, 1960)

The cortical cells of mammalian adrenals and the interrenal cells of avian adrenals contain ascorbic acid, and lipoid droplets composed mainly of neutral fat and cholesterol, and these substances are supposed to have close relationship to the production or secretion of cortical hormones. However, these substances are not detected histochemically in the interrenal cells of teleosts, as reported in the previous paper[1].

On the histochemically unique interrenal cells of teleosts, cellular alterations induced were investigated under some experimental conditions such as the injection of mammalian adrenocorticotropic hormone (ACTH), immersion in dilute sea water or rearing in thiourea solution.

Experimental methods

In the following experiments goldfish, *Carassius auratus*, were used.

Effects of mammalian ACTH: 24 animals weighing 18–24 gm were injected intraperitoneally with 1 I.U. of ACTH (N. V. Organon's "Cortrophine") once a day for 1, 2, 5, 8 or 10 successive days. As control, 10 animals were injected with the hormone's solvent only. These animals were sacrificed at 6 hours after the last injection.

Effects of thiourea: 15 animals were raised in 0.1% thiourea solution for 15, 42 or 50 days. For control, other 5 animals were raised in normal water for 42 days.

Effects of rearing in dilute sea water: 25 animals were used. These animals were divided into 4 groups and raised by the following procedures.

Group 1. 5 animals were raised in 1/5 sea water*** for 5 days.

Group 2. 5 animals were raised in 1/5 and then 1/3 sea water for 5 days respectively.

Group 3. 5 animals were raised in 1/5, 1/3 and then 2/5 sea water for 5 days respectively.

Group 4. 10 animals were raised in 1/5, 1/3, 2/5 and then 1/2 sea water for 5 days respectively. Two goldfish of this group were raised further in 1/1 sea water for 3 hours after having reared for five days in 1/2 sea water.

* A part of the work for the Doctor's degree of the author under Prof. Y. SUYEHIRO.

** Fac. Agr. Univ. Tokyo, Tokyo, Japan. (小栗幹郎: 東大農学部) Present address: National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan. (放射線医学総合研究所).

Read before the Annual Meeting of the Japanese Society of Scientific Fisheries, April 1, 1959.

*** 1/5 sea water; one part of sea water is diluted by four parts of fresh water.

Here, the microscopic examinations were made on the histological alterations of the interrenal cells induced by rearing in sea water of various salinities.

The head kidneys containing the interrenal cells were fixed in BOUIN's or ZENKER-formol fluids and imbedded in paraffin. Sections were stained with MAYER's acid haemalum-eosin, MALLORY's triple stain, and GOMORI's chrome-haematoxylin phloxine. To discriminate the pigment granules appearing in the interrenal cells treated with thiourea solution, bleaching with 10% hydrogen peroxide was also employed.

Results

1) Effects of mammalian ACTH: No remarkable alterations were observed in the histological structure of the interrenal cells injected with 1 or 2 I.U. of mammalian ACTH. However, the hypertrophy of the interrenal cells is conspicuous in the fishes injected with 5, 8 or 10 I.U. of this hormone and the nuclei of these cells increase in size. Furthermore, the nucleoli are hypertrophied and the chromatins decrease in number in most cases (Fig. 2–1). Such changes are similar to those of RASQUIN[2] on the characin, *Astyanax mexicanus* and of CHAVIN[3] on the goldfish, *Carassius auratus*. In this connection, OLIVEREAU and FROMENTIN[4] reported that the atrophy of interrenal cells in the eel, *Anguilla anguilla*, is observed after hypophysectomy.

To show more clearly the hypertrophy of the interrenal cells induced with ACTH, the size of nuclei is measured in five goldfish injected with 10 I.U. of this hormone and compared with that of interrenal cells in control. This measurement was done on 200 interrenal cells in each goldfish, and the results are shown in Fig. 1. From this figure, it is evident that the hypertrophy of interrenal cells of goldfish is induced with the administration of mammalian ACTH.

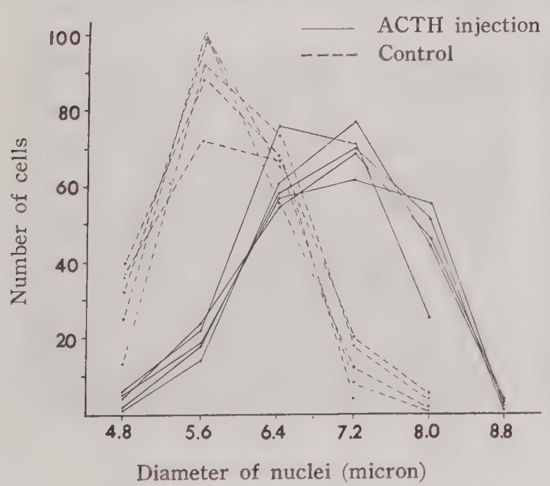


Fig. 1. Distribution curve of the nuclear diameter of interrenal cells in control and mammalian ACTH injected goldfish.

2) Effects of thiourea: The hypofunctional state of the interrenal cells occurs in the goldfish raised in 0.1% thiourea solution for 42 or 50 days, and also shrinkage of cytoplasm and pycnosis of nuclei are observed. The most conspicuous change, however, taking place in these cells, is the appearance of yellowish brown pigment granules in the cytoplasm, especially around the nuclei (Fig. 2–2). In the interrenal cells of goldfish, raised in 0.1% thhiourea solution for 15 days, these pigment granules have not appeared

yet. In the control fish no pigment granules were observed. In GOMORI's chrome-haematoxylin phloxine stained preparations, the yellowish brown colour of these granules is bleached by the oxidizing agent ($KMnO_4+H_2SO_4$) used in the pretreatment, therefore the presence of these pigment granules becomes obscure. Moreover, these pigment granules are bleached by the treatment of 10% hydrogen peroxide for 24 hours. Therefore, they may be melanin pigment.

3) Effects of rearing in the dilute sea water: No conspicuous alterations of the interrenal cells were observed in the goldfish of groups 1–3 but remarkable degenerated interrenal cells are detected in goldfish in group 4 (Fig. 2–3). In these degenerated tissues the interrenal cells are atrophied and disorderedly arranged, chromatin is increased in number and also the nuclei become unclear. Moreover, the distinct pycnosis of nuclei is detected in the interrenal cells of two goldfish, which are raised in 1/1 sea water for 3 hours after rearing in 1/2 sea water for 5 days (Fig. 2–4).

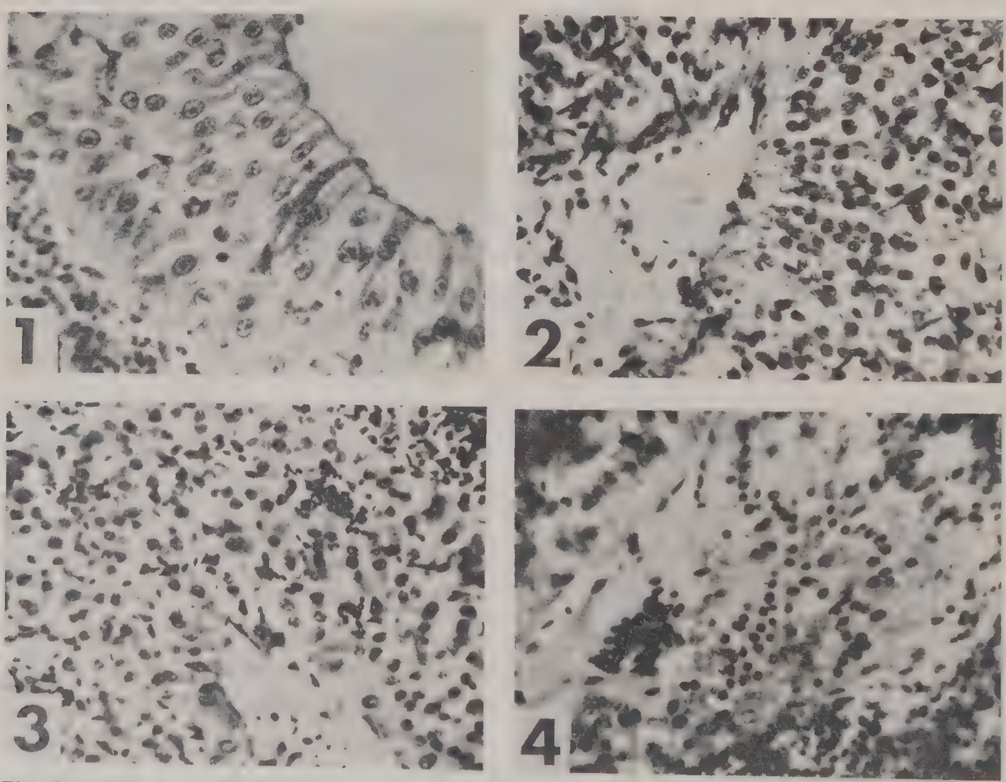


Fig. 2. Interrenal cells of goldfish, *Carassius auratus* L. 1. Administered with ACTH ("Cotrophine" 1 I.U. per day for 10 days). 2. Reared in 0.1% thiourea solution for 42 days. 3. and 4. Reared in dilute sea water. Detail in paper. ×380.

Discussion

It is well known that the size of nuclei is changeable according to the functional

activity of cells (KRANTZ[5]), and that the volume of nuclei in the cortical cells of mammalian adrenals is increased in the accelerating and decreased in the lowering of activity (KNIGGE[6]). Therefore, the hypertrophy of interrenal cells induced by ACTH-administration may indicate the hyperfunctional activity of these cells. Using bonito, *Katsuwonus pelamis* and tunny, *Thunnus thynnus*, ITO et al[7] reported that the ACTH-like hormone is contained in the hypophysis of teleosts. On the other hand, FONTAINE and HATEY[8),9] ascertained that the cortisone-like steroid hormones are present in the blood of Atlantic salmon, *Salmo salar*. From the author's observations as well as the above mentioned reports, therefore, it is assumed that the activity of interrenal cells is controled by the interrenal stimulating hormone secreted from the hypophysis and the hypoyhysis-interrenal system exists in teleosts such as the hypophysis-adrenal cortex system in mammals.

In the administration of ACTH on reptiles and amphibia, it is said that the increasing of dosage induces the degeneration of interrenal cells in consequence of over-secretion of ACTH (MILLER, M. R.)[10),11]. Therefore, the degeneration of the interrenal cells of goldfish reared in dilute sea water may be explained as follows. The secretion of interrenal-stimulating hormone is hastened by the sudden changes of osmotic pressure of environmental water, consequently the over-secretion of hormones from the interrenal cells occurs, and finally these cells are exhausted and thus degeneration takes place in the interrenal cells.

Thiourea is one of the antithyroid drugs and it suppresses the function of the thyroid glands of mammals. Moreover, GOLDSMITH et al[12] and SCOTT[13] reported that this substance is also effective as the antithyroid drug to teleosts. On the other hand, it is said that these drugs suppress indirectly the function of the adrenal cortex of mammals in consequence of the hypofunction of the thyroid glands. In the author's experiment, the hypofunction of the interrenal cells of goldfish occurs when rearing with thiourea solution. Also in the shrunk cytoplasm appear a good deal of melanin pigment granules relating probably to the degeneration of interrenal cells. For such reasons, it is assumed that a close relationship exists between the thyroid gland and the interrenal cell group of teleosts. It is well known that the thyroid glands of teleosts take part in the osmo-regulation and have close relationship to migration (HOAR and BELL[14], HOAR[15]). In these cases, subsequently, it is supposed that the histological alterations occur in the interrenal cells having close relationship to the thyroid glands. On this respect, further studies are being carried out.

Summary

1) The mammalian ACTH is effective for teleosts and accelerate the function of interrenal cells. Consequently the conspicuous hypertrophy of nuclei occurs.

2) Elevating the salinity of dilute sea water and continuing the rearing of gold-

fish, the conspicuous degeneration of interrenal cells occurs at last.

3) In goldfish reared in 0.1% thiourea solution for long periods (42–50 days), the interrenal cells show the hypofunctional state and many melanin pigment granules appear in the cytoplasm.

The author wishes to express his deep gratitude to Prof. Y. SUYEHIRO and Assoc. Prof. T. HIBIYA for their kind guidance throughout the course of this study. Thanks also to Prof. S. NISHIDA and Assoc. Prof. K. MOCHIZUKI of Tokyo University for their invaluable advice.

References

1) OGURI, M.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **26**, 448–451 (1960).
2) RASQUIN, P.: *J. exper. Zool.*, **117**, 317–358 (1951).
3) CHAVIN, W.: *Ibid.*, **133**, 1–46 (1956).
4) OLIVEREAU, M. and H. FROMENTIN: *Ann. Endocrinol., Paris*, **15**, 805–826 (1954).
5) KRANTZ, H.: *Z. Zellforsch.*, **35**, 425–475 (1951).
6) KNIGGE, K. M.: *Anat. Rec.*, **120**, 555–575 (1954).
7) ITO, Y., E. TAKABATAKE and H. UI: *J. pharma. Soc., Japan*, **72**, 1029–1033 (1952).
8) HATEY, J.: *Arch. intern. Physiol.*, **62**, 313–321 (1954).
9) FONTAINE, M. and J. HATEY: *C. R. Acad. Sci., Paris*, **239**, 319–321 (1954).
10) MILLER, M. R.: *Anat. Rec.*, **113**, 309–323 (1952).
11) ———: *Ibid.*, **116** 205–225 (1953).
12) GOLDSMITH, E. D., R. F. NIGRELLI, A. S. GORDON, H. A. CHARIPPER and M. GORDON: *Endocrinology*, **35**, 132–134 (1944).
13) SCOTT, J. L.: *Zoologica*, **38**, 53–62 (1953).
14) HOAR, W. S. and G. M. BELL: *Canad. J. Res., D*, **28**, 126–136 (1950).
15) HOAR, W. S.: *Biol. Rev.*, **28**, 437–453 (1953).

SOME HISTOLOGICAL OBSERVATIONS ON THE INTERRENAL BODIES OF ELASMOBRANCHS*

Mikio OGURI**

(Received Jan. 18, 1960)

Recent cytochemical studies of CASPERSSON[1] indicate that there is a close relationship between the nucleolus and the production of cellular protein. In connection with this hypothesis, it is known that the extrusion of the nucleolar materials out of the nucleus into the cytoplasm occurs in cells of various organs[2-5]. DITTUS[6),7)] reported this extrusion in the interrenal cells of the amphibian, *Ichthyiophis glutinosus*, and in elasmobranchs, *Torpedo ocellata* and *T. marmorata*.

This paper presents the results of histological studies made on the interrenal bodies of some Japanese elasmobranchs, collected during the breeding season, and the interesting phenomenon of extrusion of nucleolar materials was detected.

Materials and Methods

In the present work, two species of elasmobranchs, *Narke japonica* and *Triakis scyllia*, which are viviparous, were used to examine the histological changes in the interrenal bodies. The number of animals examined under various stage of gonad activity is shown in the following table.

Table 1. Elasmobranchs used in the study of interrenal bodies, showing the various stages of gonad activity.

Animals with	Immature testis	Immature ovary	Mature testis	Mature ovary	Embryo
N. Japonica	1*	2	0	2	43
T. scyllia	5	7	2	2	2

* Number of individuals investigated.

The following elasmobranchs, in addition to the above mentioned ones, were also studied to observe the extrusion of nucleolar materials into the cytoplasm.

Heterodontus japonicus "Nekozame"; *Dasyatis akajei* "Akaei"
Urolophus aurantiacus "Hirataei"; *Raja kenojei* "Gangiei"

The interrenal bodies were fixed in ZENKER-formol and SERRA's fluids. Occasionally CARNOY's or BOUIN's fluids were also used but without good results. Paraffin sections were made and those fixed in ZENKER-formol were stained with MAYER's acid haema-

* A part of the work for the Doctor's degree of author under Prof. Y. SUYEHIRO.

** Fac. Agr., The Univ. Tokyo, Tokyo, Japan (小栗幹郎, 東大農学部).
Present address: National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan (放射線医学総合研究所).

lum and eosin, MALLORY's trichrome, GOMORI's chrome-haematoxylin and phloxine or HEIDENHAIN's iron-haematoxylin stains. For detecting ribo-nucleic acid (RNA), sections fixed with SERRA's fluid were stained with methylgreen pyronin, using SIBATANI's technique[8]. Both methylgreen and pyronin were purified before staining. In order to identify and extract RNA, half of the slides were treated with 10% perchloric acid for 20 minutes at 70°C, prior to staining.

Observations

The interrenal bodies of elasmobranchs are oval or rod-shaped bodies situated near the kidneys, and they are creamy white, yellow or brown in colour. Their brown colouration is due to the presence of pigment granules, which disappear after being treated with GOMORI's chrome-haematoxylin and phloxine stain, therefore, it seems that these granules are melanin pigment. Microscopically, the interrenal bodies are found to be lobulated and each lobule is composed of polygonal cells which contain many lipoid droplets of various size[9]. In case of rays, fuchsinophile granules are also present.

1) Histological changes during the breeding season: Remarkable alterations were observed in the interrenal bodies of *N. japonica*. In young animals with immature ovaries, the interrenal cells are small and few fuchsinophile granules were observed. (Plate I, 1 and 2). However, in those animals with ripe eggs (1.7 cm in diameter), the lobules become large and the cytoplasm was found to be remarkably vacuolated (Plate 1–3). These vacuoles seem to be lipoid droplets. In pregnant animals (usually with 7 embryos), the lobules are somewhat small than those of animals with ripe eggs, and fuchsinophile granules appear abundantly in the interrenal cells (Plate I–4). On the other hand, in the interrenal bodies of *T. scyllia*, so for studied, no definite histological changes associated with the breeding season were observed.

2) Extrusion of nucleolar materials: In preparations of all species of elasmobranchs investigated, it was detected that certain materials extrude out of the nucleus into the cytoplasm. This extrusion occurs more frequently in the interrenal bodies of *N. japonica* and *H. japonicus* than those of others. The nature of this material was not understood until the methylgreen and pyronin stain was used. In this case the extruded materials as well as the true nucleolus (in cells where extrusion had not yet occurred) are stained red with pyronin. This result is negative after treatment with perchloric acid. It seems, therefore, that these materials are nucleoli or nucleolar fragments containing RNA. Consequently, the author call them " nucleolar materials ". When examining the preparations, nucleolar materials at various stages of extrusion were observed; some of them lie close to the nuclear membrane or are seen migrating through it, while others are found in the cytoplasm (Plate I. 5–7). In the present investigation stained granules, as those reported by DITTUS[7], were not observed near the nucleolar materials already extruded into the cytoplasm. The nucleolar materials

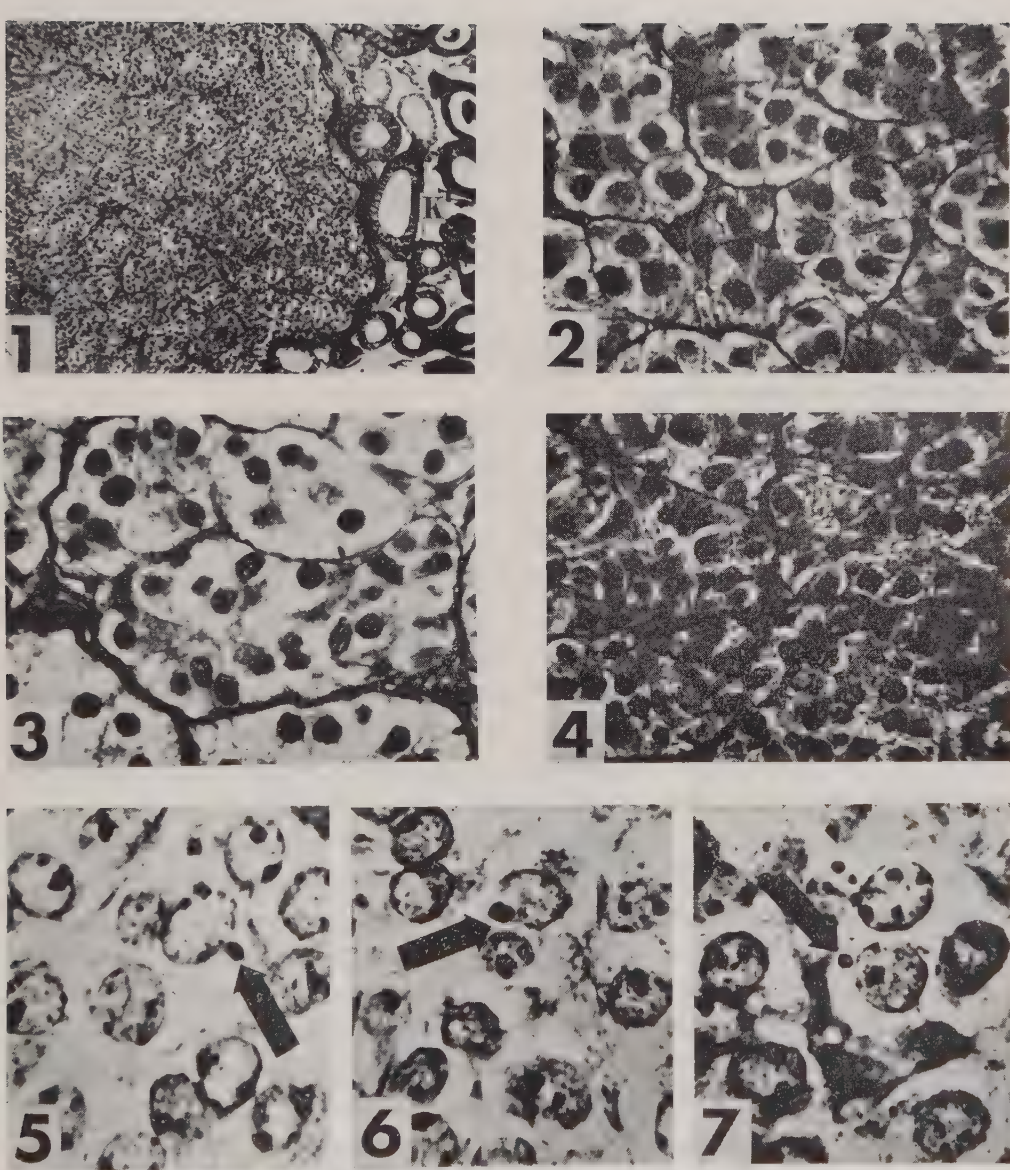


Plate I. 1. Interrenal body of *Narke japonica* with immature ovary. ×60 K, Kidney. 2. The same as the above. ×330. 3. Interrenal body of *N. jponica* with ripe eggs. ×330. 4. Interrenal body of *N. japonica* with embryos. ×330. Fuchsinophile granules are abundant. 5–7. show the extrusion of nucleolar materials out of the nucleus into the cytoplasm of *Heterodontus japonicus*. Arrows show the nucleolar materials. ×Ca 1200 (in oil immersion).

are homogenously stained with acid dyes or with iron-haematoxylin indicating the absence of vacuoles. The nuclear membrane is obscure where nucleolar materials are passing through it. Hence this extrusion seems to be due to the local dissolution of

the nuclear membrane. The fate of the nucleolar materials extruded into the cytoplasm cannot be pursued but they seem to disappear afterwards.

Discussions

Seasonal histological alterations have been described in the interrenal bodies of some elasmobranchs (FRASER[10], FANCELLO[11], DITTUS[7] and ABOIM[12]). In these studies, investigators except ABOIM, confirmed that the increased interrenal activity is associated with maturation of ovary or pregnancy and that hypertrophy of interrenal lobules as well as increase in the amount of lipoid droplets or cytoplasmic granules is observed in these active functional states.

In the present study, remarkable activity of the interrenal bodies was observed in the pregnant specimens of *N. japonica* and many fuchsinophile granules were detected in the interrenal cells. UOTILA[13] and KAR[14] described fuchsinophile granules in the cortical cells of fowls, and they stated that those granules are mitochondria. In the present study, the author also concludes that the fuchsinophile granules may be mitochondria-like granules, as they are detected only in sections fixed with ZENKER-formol fluid, but not in case of other fixatives used. MILLER[15] in 1950 reported that the secretory activity of the cortical cells is associated with the increase in the number of mitochondria, he[16] also stated in 1953 that mitochondria have relation with the synthesis of cortical hormone. Accordingly, it seems to the author that the secretory activity of the interrenal bodies increases in *N. japonica* during pregnancy.

Extrusion of the nucleoli or nucleolar materials into the cytoplasm out of the nncleus was reported by many researchers in the cells of various organs. ITO[2] and YAMAMOTO[3] observed this phenomenon in the ovarian eggs of teleosts. ALTMANN[4),5] confirmed that this extrusion of nucleolar materials occur in the human pancreatic cells or hepatic cells. According to DITTUS[7], the extrusion of nucleoli were observed also in the interrenal cells of elamobranchs, *T. ocellata* and *T. marmorata*. In this case the nucleolar materials were reported to be extruding through the intact nuclear membrane. In the present observation, however, the nuclear membrane is obscure where the nucleolar materials are extruding into the cytoplasm. Therefore, it seems that extrusion takes place through the dissolution of nuclear membrane.

From the studies of CASPERSSON[1] it is well known that nucleic acid takes a significant part in the synthesis of cellular protein and further the nucleoli play an important role for the production of nucleic acid in the cytoplasm. Therefore, the phenomenon of extrusion of nucleolar materials, detected in the interrenal bodies of elasmobranchs is significant, and the author suggests that it may have some relation with the formation of steroid hormone.

Summary

1. Remarkable histological changes are observed in the interrenal bodies of *N. japonica*, collected during the breeding season and hypertrophy of interrenal cells was found in those animals with mature eggs or embryos. On the contrary, no considerable histological alteration was detected in those bodies of *T. scyllia*.

2. The extrusion of nucleolar materials out of the nucleus into the cytoplasm is almost found in the interrenal cells of Japanese elasmobranchs investigated.

The author express his deep gratitude to Prof. Y. Suyehiro and Assoc. Prof. T. Hibiya for their kind guidance throughout the course of this work. Thanks also to Prof. S. Nishida and Assoc. Prof. K. Mochizuki of Tokyo University for their valuable advice and to Dr. I. Tomiyama, Director of Marine Biological Station of Tokyo University, for the facilities he gave me during the collection of these fishes.

References

1) Caspersson, T. O.: Cell Growth and Cell Function. New York: W. Norton & Co. (1950).
2) Ito, T.: *Cytologia*, **9** 283–306 (1938).
3) Yamamoto, K.: *J. Fac. Sci. Hakkaido Univ.*, Ser. VI, **12**, 375–390 (1956).
4) Altmann, H. W.: *Z. Naturforsch.*, **4**, b, 138–144 (1949).
5) ———: *Z. Krebsforsch.*, **58**, 632–645 (1952).
6) Dittus, P.: *Z. wiss. Zool.*, **147**, 459–512 (1936).
7) ———: *Ibid.*, **154**, 40–124 (1941).
8) Sibatani, A.: *Cytologia*, **16**, 315–324 (1952).
9) Oguri, M.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **26**, 448–451 (1960).
10) Fraser, A. H. H.: *Quart. J. microscop. Sci.*, **73**, 121–134 (1929).
11) Fancello, O.: *Pubb. Staz., Zool., Napoli*, **16**, 80–88 (1937).
12) Aboim, A. N.: *Portugaliae Acta Biol.*, Sér. A, **1**, 353–383 (1946).
13) Uotila, U. U.: *Anat. Rec.*, **75**, 439–449 (1939).
14) Kar, A. B.: *Ibid.*, **99**, 177–197 (1947).
15) Miller, R. A.: *Amer J. Anat.*, **86**, 405–437 (1950).
16) ———: *Ibid.*, **92**, 329–359 (1953).

BLOOD CELL CONSTITUENTS IN FISH—III.

NEW FUNCTIONS OF THE ERYTHROCYTE RESPECTING COAGULATION IN FISH BLOOD*

Ryôgo Yûki**

(Received Feb. 23, 1960)

The spindle cells*** in blood of the vertebrates lower than birds have been regarded to have a function in coagulation analogous to that of the platelets in mammals.[1-4] If a blood smear preparation is made after the fish blood is left purposely as it is until the time just before it begins to coagulate, the following picture is observed; that is, in addition to the usual occurrence of both agglutination and disintegration of the spindle cells, the erythrocytes also are disintegrated. The author considered that such a disintegration of the erythrocytes might be caused by the phenomenon of the cells becoming easy to break down after they have participated in the blood coagulation in the living state of them. If such is the case, it is probable that in the living state also the erythrocytes of fish play an important role in the blood coagulation similar to the function of platelets in mammals. To substantiate this assumption, the following experiments were performed using the blood of adult rainbow trout, *Salmo irideus*, anadromous form of chum salmon, *Oncorhynchus keta* and marine form of pink salmon, *O. gorbuscha*.

The author wishes to thank Prof. Shinjiro Kobayashi for his cordial guidance in the course of this work.

Method and Results

Separation of the erythrocytes: In all cases, the erythrocytes were separated from the defibrinated blood. To remove fibrin, the blood was strained through four layers of washed gauze. The filtrate was centrifuged for 5 minutes at 2000 rpm. The supernatant fluid with the inclusion of as much of the buffy layer as possible was drawn off and replaced by an equal volume of physiological saline of pH 7.4 chilled at 5–7°C. After thorough mixing, the blood was centrifuged similarly as in the former case, and then both the saline supernatant liquid and the layer of the remaining leucocytes were discarded. After repetition of such a procedure 3 times, the suspended erythrocytes were sampled from the middle layer of the residue. Then, these cells were washed

* Supported by a grant-in-aid for Developmental Scientific Research from the Ministry of Education.

** Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Japan. (結城了伍 北海道大学水産学部)

*** In some papers, these cells have been called also as "thrombocytes" or "kernige Blutplättchen".

several times again with saline solution. Thus, the erythrocytes were completely separated from the other blood elements.

Accelerative function of the fish erythrocytes for fibrin formation: The second clotting factor of platelets in mammalian blood has been well known to catalyze the interaction of thrombin and fibrinogen. To learn whether the erythrocytes of fish have such a function as have the platelets of mammalian blood or not, the following experiments were performed using the blood of rainbow trout and chum salmon. The lyophilized thrombin (Mochida Pharm. Co.) was dissolved into a required unit with physiological saline—(A). Varying numbers of the washed erythrocytes were added to the plasma prepared from the blood containing 10% of anticoagulant of either heparin alone or a mixture of heparin and dual oxalate[5]—(B). By adding one volume of (A) to five volumes of (B), the time required for appearance of the first visible evidence of a clot was measured under the temperature 17–18°C. As is seen in Table 1, the time required for fibrin formation in the plasma containing the erythrocytes is found to be clearly shorter when compared with that of the plasma only.

Table 1. Accelerative function of the fish erythrocytes for fibrin formation.

Plasma taken from	Units of thrombin used	Number of erythrocytes suspended in plasma ($\times 10^4/mm^3$)	First visible evidence of fibrin formation in seconds	Number of determinations
Rainbow trout†	15	0 (plasma only)	44.4± 3.0	5
	15	10.2±0.4	40.0± 2.0	5
	15	21.3±0.4	39.0± 2.4	4
	15	38.6±0.7	31.4± 2.7*	5
Rainbow trout††	20	0 (plasma only)	43.0± 1.0	4
	20	7.9±2.7	47.0± 0.9	3
	20	18.9±1.4	22.7± 4.1**	3
	20	19.4±2.0	21.3± 2.8**	3
Rainbow trout††	20	0 (plasma only)	41.4± 2.4	9
	20	42.7±1.3	20.6± 2.5**	5
Chum salmon††	20	0 (plasma only)	121.6±11.3	6
	20	55.2±0.3	33.3± 3.3**	6
Chum salmon††	25	0 (plasma only)	77.0±4.5	15
	25	17.5±0.8	53.5±3.3**	8
	25	23.1±0.5	24.4±3.2**	9
	25	55.2±0.3	10.0±0.6**	7

Anticoagulant: † heparin, †† mixture of heparin and dual oxalate.

*, ** Statistically significant more than 95% and 99% of probability, respectively.

In the next experiment, when one volume of the lyophilized thrombin 5 units per ml was added to ten volumes of the solution in which was dissolved 20 mg of "Seegers fibrinogen" purified from bovine (Mochida Pharm. Co.) in 10 ml of physiological saline, the time required for the fibrin formation at 17°C was found to be 24.8±0.5 seconds, as shown in Table 2. Contrasting with this result, when the erythrocytes of the rainbow trout were suspended in the same fibrinogen solution to the amount of

about 500,000 per 1 mm³, the time for fibrin formation was reduced to 18.5±0.9 seconds (Table 2).

Table 2. Accelerative function of the erythrocytes in rainbow trout for " Seegers fibrinogen " solution.

Units of thrombin used	Number of erythrocytes suspended in fibrinogen solution ($\times 10^4/mm^3$)	First visible evidence of fibrin formation in seconds	Number of determinations
5	0 (fibrinogen solution)	24.8±0.5	10
	9.2±0.5	23.0±0.9	5
	25.6±1.1	22.0±1.0	5
	51.2±0.9	18.5±0.9*	6

* Statistically significant more than 95% of probability.

It is presumable from these results that the erythrocytes of these fishes have an accelerative factor respecting fibrin formation.

Effect of the fish erythrocytes in the thromboplastin generation test: It has been clearly ascertained that the third clotting factor of platelets in mammalian blood has a function which is closely related to the formation of thromboplastin. Applying the thromboplastin generation test[6] to blood samples of each the rainbow trout and pink salmon, the author examined whether or not the fish erythrocytes have such a similar function as the platelet factor 3. That is, the erythrocytes suspended in the physiological saline solution was used substituting for platelets which have been used in the generation test for human blood. Both the plasma and the serum of the blood were prepared by the routine method used in human blood,[6] but the clotting time was measured under the temperature 17–18°C. Curves I, II and III in Fig. 1 graph the

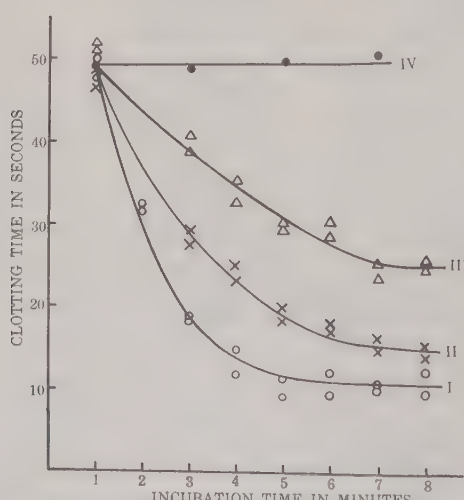


Fig. 1. Effect of the erythrocytes of rainbow trout in the thromboplastin generation test. Number of erythrocytes suspended in saline solution as follows: (I) 52.1 $\times 10^4/mm^3$, (II) 24.7 $\times 10^4/mm^3$, (III) 4.9 $\times 10^4/mm^3$, (IV) 0 (control).

results obtained from the experiments made using the rainbow trout erythrocytes in which varying numbers of erythrocytes were suspended in the saline solution. As is

clear from this figure, the clotting time in each case is distinctly reduced with the lapse of time after incubation. It may be said that this result is almost identical with that of the human blood. Further, it is found that the reduction of the clotting time becomes more distinct, according to the increase of number of erythrocytes suspended, while, in the test of the curve IV to which any erythrocytes were not added, the clotting time was not reduced at all. Similar results were also obtained from the experiment made with the blood of the pink salmon. So, these facts suggest that the erythrocytes of fish possess one of the thromboplastin generating factors in the blood.

Discussion

Although the clotting mechanism of fish blood still remains unexplained, it is presumable that it resembles that of the human blood in many respects. Nevertheless, it is not considered that fish blood has all the factors which have been found in human blood. Recently, GEORGATSOS *et al.*[7] have reported a new clotting factor which was obtained from the hemolysate of the erythrocytes of the human being and also of various other kinds of mammals. KOBAYASHI *et al.*[8,9] also have found the existence of the activity of thromboplastin generation in the hemolysate of human erythrocytes. On the basis of the results reported by these previous workers, it is presumable that in the erythrocyte of the higher vertebrates the clotting function is observed only in the state of hemolysate. However, as described in the present paper, it seems to be highly characteristic that the fish erythrocytes are able to exhibit their clotting ability in the living and intact state. Such functions of the fish erythrocytes may possibly play an important role *in vivo* also, though in fish blood the cells which have the clotting factor have been described to be spindle cells alone.

Summary

This report describes evidence that the erythrocytes of fish, at least, of a few species of the salmonoid have both an accelerative factor for the fibrin formation and a function of the thromboplastin generation.

References

1) JORDAN, H. E.: *Am. J. Anat.*, **51**, 215 (1932).
2) SCHÄFFER, E.: *Fol. Häm.*, **61**, 239 (1939).
3) NAGATANI, Y.: *Yamaguchi J. Sci.*, 8, 45 (1957).
4) YÛKI, R.: *Zool. Mag.*, **68**, 111 (1959).
5) KATO, K.: Ketsuekigaku Kenkyuhô, *Nanzando, Tokyo* (1950).
6) BIGGS, R. and A. S. DOUGLAS: *J. Clin. Pathol.*, **6**, 23 (1953).
7) GEORGATSOS, J. G., C. V. HUSSEY and A. J. QUICK: *Am. J. Physiol.*, **181**, 30 (1955).
8) KOBAYASHI, K., K. SATAKE, H. KURITA, Y. OGIHARA and Y. MATSUOKA: *Acta Haem. Jap.*, **21**, 301 (1958).
9) KOBAYASHI, K.: *Acta Haem. Jap.*, **22**, 432 (1959).

魚類の血球組成—IV.

血液塗抹標本にみられる「核影」について

結城了伍

(1960年2月29日受理)

BLOOD CELL CONSTITUENTS IN FISH—IV.

ON THE "NUCLEAR SHADOW" FOUND IN BLOOD SMEAR PREPARATION

Ryôgo Yûki*

1) In smear preparations of fish blood, the formless bodies are often observed, which are different from any of the blood elements such as erythrocytes, leucocytes and spindle cells. These bodies are not provided with any fundamental structure like that of the usual blood cell; they are colored light purplish red by Wright-Giemsa staining (Fig. 1a~d). The reason why the author calls this special body a "Nuclear shadow" and its origin are described in the present paper.

2) It is presumable that the blood cell which has become easily broken down by some factors disintegrates at the time of smear preparation leaving its nucleus to be a nuclear shadow.

3) Blood cells in the senescent state are considered to be one sort of the cells which are easily broken down by smear preparation. Judging from the constituent ratio of the circulating blood cells, almost all of the nuclear shadows owe their origin to erythrocytes. Therefore, it may be said that the degree of the occurrence of nuclear shadows in the smear preparation indicates indirectly the content of senescent erythrocytes in the circulating blood.

4) Abnormally there are found a number of nuclear shadows when a smear preparation is made using the blood which has partly clotted (Fig. 5). Such a phenomenon may be correlated with the clotting factor of fish erythrocytes, the existence of which has been demonstrated by the author.[15]

5) As is clear from the above findings, that must be justified in judging whether or not the nuclear shadows observed were caused by physiological changes of fish.

魚類の血球組成が，飼育水に含まれているごく微量の酢酸鉛によって影響を受けることをDAWSON[1]は指摘している。また，彼は有害物の早期判定に，体液や組織の化学分析によるよりも，循環血液中の赤血球にみられる損傷の程度を調べることの方が，より満足すべき結果の得られたことを，*Necturus* で観察している。[2] 最近，OSTROUMOVA[3]はニジマス，コイ，サケの血球を観察し，その組成と環境要因との関係について興味深い報告をしている。このように下等脊椎動物においても，血球組成と生体変化との間に密接な関係がみられ，しかも生体の受けた影響が血球組成にきわめて鋭敏に反映することは，この反応を生物学的指標として，病態生理の研究に応用できる可能性を示している。しかし，そのためには血液塗抹標本上での血球

* 北海道大学水産学部 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Japan).
(印刷費負担)

像について，正確な観察と，その組成比の変動についての適確な見解をもつことが必要であるが，現在，なお多くの問題が残されている。たとえば，血液塗抹標本上において，しばしば観察されるにもかかわらず，いまだに明解な解答が与えられていない像の1つに，本論文に記述する「核影」の問題がある。この論文においての「核影」とは，塗抹標本の May-Giemsa あるいは Wright-Giemsa 染色において，明るい赤紫色に染まる形態不定の瀰漫性の像である。森下[4] はガマ血液においてかかる像を観察し，これは赤血球から放出された細胞質であり，将来，白血球の核となるもので，lymphoid element と称すべきであると論じている。筆者は本論文において，このような赤紫色に染まる形態不定の像を，「核影」と呼称するのが適当である理由と，その成因について記述した。

実験材料および方法

この研究に用いた魚種は養殖されたニジマス成魚である。採血は尾柄部切断によつたが，切断に先だち，乾布でぬぐつた尾柄部は，更に 70% アルコールで消毒した。血液は塗抹後直ちに乾燥し，Wright-Giemsa 染色および FEULGEN-ROSSENBECK の核反応の方法を直ちに施行した。Wright-Giemsa 染色は前報[5]と同様，Wright 染色液で2分間固定し，Mc JUNKIN-HADEN の緩衝液で先の液を2倍に稀釈して5分間染色，その後 SÖRENSEN の pH 6.8 燐酸緩衝液5容に，蒸溜水 95 容を加えた稀釈液9容に対し，Giemsa 原液1容を含む稀釈 Giemsa 液でさらに 10 分間染色した。FEULGEN-ROSSENBECKの核反応は LISON[6] の記載にしたがつた。なお，細胞質を明確にするため，70% アルコールに溶した 0.5% light green で後染した。

観察および論議

「核影」と呼称する理由

ここに「核影」と呼ぶ塗抹標本において観察される像は，緒論にも簡単に述べたように，Wright-Giemsa 染色で，明るい赤紫色に染まるエオジン強染性を示すものである。その形態は，Fig. 1a～d に示すように極めて変化に富み，特定の形態を示さない。周縁は不鮮明で明確な輪廓をもたず，膜層はみられない。内部は均一な相をなしているが明るく見える小さい空隙に富み，しかも細胞としての一般的構造はみられない。しかし，これらの像には FEULGEN-ROSSENBECK の核反応が認められるから，DNA の存在が考えられる (Fig. 2a, b)。このような点から，この形態不定のエオジン強染性の像は，細胞核と何らかの関係があるものと推察される。なお，その形態あるいは染色性 (Wright-Giemsa 染色) から移行形をトレースすると，Fig. 3a～d に示すような像になるものと推察される。この段階では，形態不定の像の周辺には淡橙色に染まつた，あたかも赤血球細胞質に類似する影像がみられる。さらにつぎの段階では，Fig. 4a～d の形態を経て，成熟赤血球に連続するものと考えられる。この成熟状態の赤血球の核は，濃紫色に染り，核網は粗である。それでは，Figs. 3, 4 のような現象はなぜ生ずるのであろうか。これについて著者は，破壊されやすくなつていた赤血球が，塗抹標本作成時の物理的衝撃によつて形態がゆがめられ，あるいはまた破壊されて，その甚だしい状態が核のみの残影として留まつたものであろうと推察している。この破壊されやすくなつた状態の赤血球とは，核の染色状態から，老化赤血球ではないかと考えられる。すなわち，細胞核の染色性は，その退行性変化に際して，染色質は好酸性と塩基性とに分離するとともに，好酸性染色質は暫時増加し，死滅時には核は全く好酸性となる。[7] たとえば，Fig. 4 の段階における核の染色性は，すでに好酸性を呈している。つまり，赤血球の老化の程度によつて破壊される状態も異なり，図示したような各段階の像が観察されるものと考えられる。

以上の諸点から，この形態不定の Wright-Giemsa 染色によつて，赤紫色に染色される像は，血球核由来の残存物であるといえよう。魚類のように，造血器官の機能的分化が遅れている動物では，成熟個体においても循環血液中に常時未熟血球が観察される。[3,8] しかし，これとは逆に，老化血球の廃棄処理を行なう器官もまた不完全ではないかと考えられる。このため老化血球が，循環血中に常時出現し，それらが塗抹標本作成時の物理的衝撃によつて破壊されたものであろう。あるいはまた，Fig. 1 のような完全な核のみの残

影は，恐らく循環血液中にあつてすでに血球膜は消失していたものか，あるいは採血時における圧の変化によつて，血球膜が破壊されたものではないかと考えられる。これらの諸点から，この像は老化血球の核の残影と推察し，これを「核影」と呼称したい。人血では，これに類似した血液像が急性および慢性の淋巴性白血病患者で観察される。これは破壊した淋巴球核の残影で，この像を「グンプレヒト氏核影 (Gumprechtsche Kernschatten)」と呼んでいる。[9] しかし，魚類のような下等脊椎動物の場合には，これはただ単に「核影」と称するのが適当である。*

細胞退化の際に起る核崩壊の過程については，多くの観察があるが，これらはすべて動物の体表皮・腸・神経細胞あるいは間質細胞等の切片標本[10,11]であるため，これらの観察結果は塗抹標本による血球核のそれとは必ずしも一致しているとはいえない。しかし，「核影」に FEULGEN-ROSSENBECK の核反応が認められることから，白上・吉松[10]が指摘しているように，これらの「核影」は核退化過程の初期段階にあるものが，塗抹標本上で観察されたものと考えられる。なお，森下[4] はガマ血液の塗抹標本で，Giemsa 液に赤染する瀰漫性の像について，これは赤血球の細胞質が放出されたもので，これは globule を形成し，淋巴球の核となるものであるから，この像は lymphoid element とも呼び得るものであると論じている。この Giemsa 液に赤染する像は，カラー写真で提示しているが，著者がここで指摘する「核影」と全く同一像であると認められる。しかし著者の観察では，既述のように「核影」とみるのが妥当であると思う。

OSTROUMOVA[3]はニジマスおよびサケの血液塗抹標本において，核のない，不整形で赤味がかつたスミレ色に染まる像を観察している。この像について，彼女は恐らく哺乳動物の血小板に類似するものであろうと推察しているが，その記載内容から推察して，この像は著者が指摘する「核影」と同一像であろうと判断される。

赤血球以外の「核影」

上述の「核影」は赤血球に由来するものであるが，赤血球以外の血球に由来する核影の存在ももちろん考えられる。Figs. 3, 4 のような状態においては，細胞質は淡い橙色を呈しているが，多くの標本につき観察を行なうと，時としてこのような段階において，明るい淡い青色に染色されている崩壊形の血球がまれにみられる。これは恐らく，monocyte あるいは lymphocyte の老化過程にあつた細胞が，塗抹時に変形されたものであろう。正常形態におけるこれら白血球の細胞質は，前報[5] に示したように Wright-Giemsa 染色によつて，lymphocyte では濃い青色，monocyte ではやや薄い青色である点から，これら白血球の崩壊像ではないかと推定される。さらに紡錘型細胞の特性[12,13]から，この種の細胞に由来する「核影」も当然存在するものと考えられる。

なお，「核影」とは純然たる核の残影のみを指すのであるから，どの血液細胞に由来する「核影」であるかの断定は不可能であるが，血球組成の比率を前報[11]に述べたような方法によつて計測した場合，成熟赤血球 10,000 に対する各種細胞の数量は，monocyte 7～10，lymphocyte 340～380，紡錘型細胞 30～40 である点から，これらに由来する「核影」はむしろまれであつて，大多数のものは赤血球に由来するものとみなされる。

「核影」の異常増多現象

「核影」の成因については既述のような点が考えられるが，異常に「核影」が多数みられる場合がある (Fig. 5)。このような現象については，下記の 2 つの原因があげられる。

その 1 つは，塗抹標本作成時に，血液採取後塗抹までに時間がかかり過ぎたため，部分的に凝血を起した場合である。このような条件下にできた標本上には，肉眼的にも明らかに一部の血液がかたまつて塗抹された形跡がみられる。あるいは，肉眼的にはそのような形跡のない場合でも，採血後塗抹までに時間がかかり過

* これらの見解，呼称については東京医大加藤勝治教授の助言を頂いた。ここに深甚の謝意を表する。

ぎた標本では，紡錘型細胞特有の異常な凝集態がみられる (Fig. 6a, b)。このような条件下にできた塗抹標本には，必ず「核影」がおびただしく多数みられる (Fig. 5)。この「核影」の異常増多現象は，別報[15]に述べた魚類赤血球にみられる凝血因子と密接な関連性があるものと考えられる。すなわち，ニジマス，サケ，カラフトマスの赤血球にみられる凝血因子とは，トロンボプラスチン形成能ならびにフィブリン形成促進能である。赤血球のこのような作用能は，血球のままの状態において発揮される点より考えて，血球膜と何んらかの関係があるものとみなされる。したがつて，上記のような凝血過程が進行した条件下の血液塗抹標本で「核影」が異常に増加する現象は，赤血球が凝血に関与したため，血球膜に変質を来たし，塗抹時の物理的衝撃によつて崩壊され，その結果「核影」が増多したのではないかと考えられる。

「核影」異常増多現象の他の原因として考えられることは，造血器官の障害あるいは環境要因によつて受けた魚体の生理的障害にもとづく老化赤血球の異常増加である。たとえば，X 線照射による造血器官の障害にともない，幼若赤血球の補給が減少し，引き続いて起る「核影」増多現象，あるいはまた，絶食にともなう「核影」増多現象は，明らかに魚体生理の障害によるものと考えられる。しかし，この魚体生理と「核影」との関係については改めて報告することとする。

以上述べたように，「核影」のできる直接的原因は，崩壊しやすい状態にあつた血球が，塗抹時の物理的衝撃によつて崩壊するのであるが，この根本的原因の 1 つとして，血液凝固に関連した問題が介在するから，それと魚体の生理状態にもとづく「核影」増多現象とを混同しないようにする注意が必要である。特に魚類のように血液凝固が速やかに起る血液においては，[16] 塗抹標本作成時における「核影」の存在意義についても，充分な考慮を払つて検討されなければならない。

摘　　要

1) Wright-Giemsa 染色による魚血塗抹標本にみられる，明るい赤紫色に染色される形態不定の像を，「核影」と呼称する理由と，その成因について記述した。

2) 「核影」は崩壊しやすい状態にあつた血球が，塗抹標本作成時の物理的衝撃によつて崩壊した血球核の残影とみなされる。

3) 崩壊しやすい状態の血球とは，老化した血球とみなされる。血球の組成比率からみると，「核影」の主体をなすものは赤血球である。したがつて，「核影」の出現率の大小は老化赤血球の含有の程度を示す指標となる。

4) 塗抹標本作成時に，すでに血液凝固が進行している場合には，「核影」が異常に増加する。これは赤血球にみられる凝血 2 因子と関係があるものと考えられる。それ故，「核影」の存在意義については，それが魚体の生理にもとづくものであるか，凝血に関連するものであるかの判定が重要である。

終りに，終始御指導御助言を賜わつた小林新二郎教授ならびに山本喜一郎教授に厚く感謝の意を表する。なお，本研究の出費は文部省試験研究費によつた。

文　　献

1) Dawson, A. B.: *Biol. Bull.*, **68**, 335 (1935).
2) ——————: *J. Morph.*, **55**, 349 (1933).
3) Ostroumova, I. N.: Известия ВНИОРХ, **43**, 1 (1957).
4) 森下敬一: 歯科学報, **57**, 441 (1957).
5) Yûki, R.: *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **8**, 36 (1957).
6) Lison, L.: Histochimie et cytochimie animales, principes et méthodes. *Paris, Gauthier-Villars* (1953).
7) 浜崎幸雄: 細胞核の生理と病理，永井書店，大阪 (1955).
8) Dawson, A. B.: *Biol. Bull.*, **64**, 33 (1933).

9) 小宮悦造・古庄乙彦: 臨床血液図説, 克誠堂, 東京 (1942).
10) 白上謙一・吉松広延: 動雑, **51**, 597 (1939).
11) WEEL, P. B.: *Z. Zellf.*, **27**, 65 (1937).
12) NAGATANI, Y.: *Yamaguchi J. Science*, **8**, 45 (1957).
13) 結城了伍: 動雑, **68**, 111 (1959).
14) YÛKI, R.: *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **8**, 264 (1958).
15) ———: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **26**, (1960).
16) 斎藤 要: 本誌, **19**, 1139 (1954).

PLATE I.

Explanation of figures

Excepting Fig. 2, all figures were photomicrographed from the Wright-Giemsa staining of the circulating blood in the rainbow trout.

Fig. 1a~d. Various forms of nuclear shadow, ca. 710×.

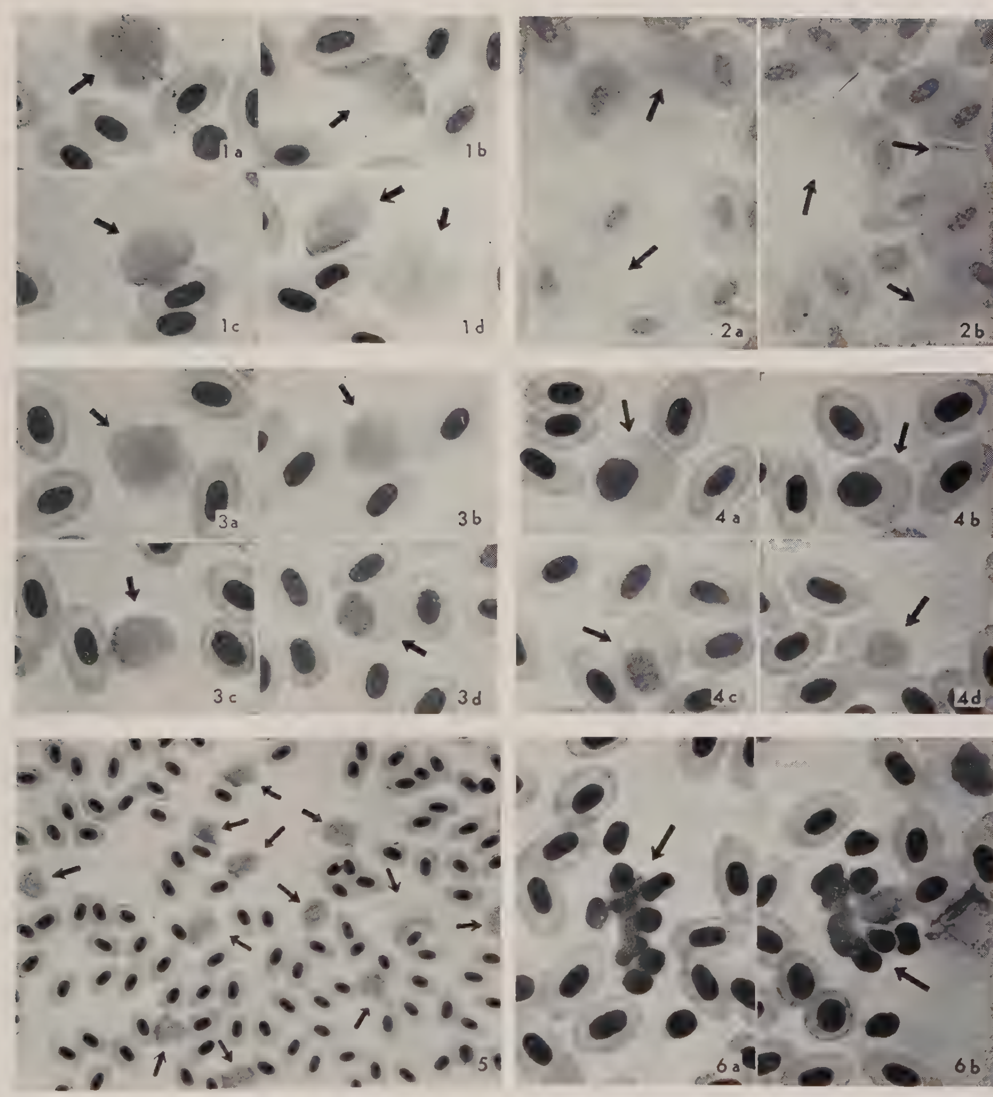
Fig. 2a and b. Nuclear shadow tested with Feulgen-Rossenbeck's nuclear reaction. The shadows are positive to this reaction, being stained pink similarly as are the nuclei of the erythrocytes, ca. 710×.

Figs. 3a~d and 4a~d. Various forms of the senescent erythrocytes transformed by the usual method of smear preparation, ca. 710×.

Fig. 5. An abnormal instance in which a number of nuclear shadows were found in a smear prepared purposely from partly coagulated blood, ca. 330×.

Fig. 6a and b. These figures were obtained from the same preparation as Fig. 5. In such an abnormal preparation, the spindle cells are usually found in clusters, several cells cohering with one another, ca. 710×.

PLATE I.



魚のビタミンAの消耗と蓄積について

山 村 弥 六 郎

(1959 年 11 月 30 日受理)

STUDIES ON THE MECHANISM OF CONSUMPTION AND ACCUMULATION OF VITAMIN A IN FISH.

Yarokuro YAMAMURA*

1. A mathematical consideration was made on the mechanism of the consumption and accumulation of vitamin A in fish body of the oil sole (*Athresthes evermanni* JORDAN & STARKS), which lives in the deep sea in north-eastern Japan.

2. The velocity of accumulation of vitamin A into the liver including the pyloric ceaca are given by

$$\frac{dA}{dt} = \alpha f W - \gamma \cdot \frac{\alpha - \alpha'}{\beta} W \qquad (1)$$

where, W denotes the body-weight of the fish, f, the vitamin A concentration of feeding substances, α, the rate of feeding, α', the rate of feeding necessary for the minimum vitality, β, a coefficient concerning the increase of body-weight, γ, a coefficient concerning the consumption of vitamin A in the body.

3. Vitamin A contents (A) of the liver and the pyloric ceaca of the fish are of a function of the body-length (L), which is expressed by

$$\frac{A}{l_\infty^n k} = \int \frac{\lambda^n}{1-\lambda} d\lambda \equiv \phi(\lambda) \qquad (2)$$

where, l_∞ signifies the maximum body-length of the species, λ equals l/l_∞, k is

$$\frac{\alpha f - \frac{\gamma}{\beta}(\alpha - \alpha')}{\varepsilon}$$

(ε: a coefficient concerning the rate of growth).

ビタミン A (以下 V·A と記す) はいうまでもなく生長の過程において消耗される。動物体内への V·A の蓄積は恐らく餌料から摂取された V·A の生長によつて消耗された残りの部分が蓄積されると考えられるから，生長の速やかに行なわれる若年期においてはほとんど肝臓中に蓄積されるいとまがないであろう。動物が成熟期に達し生長が衰えると V·A の消耗は著しく少なくなり——生長以外の生理機能に使われるとしてもその量は生長のための消耗に比べてはなはだ少ないであろうから——，しだいに急激に肝臓その他の器官への蓄積が増大してゆくであろう。しかし V·A の摂取が過剰になるとかえつて生長は阻害され，または斃死する。これらのことはネズミその他の動物の飼育実験によつて確かめられている[1)–6)]。

水産動物の場合についてもこの関係は多分変るまい。東[7)]は魚類の V·A の消費量は一般には生長速度に比例し，したがつて V·A 濃度がほぼ一定なる餌料を体重に対して一定の割合に摂取した場合は，生長の速い幼小魚よりも生長の遅い老大魚の方が単位体重に対して多量の V·A を体内に蓄積するとした。また一方餌料についても幼小魚は小型魚または餌料生物 (V·A 濃度比較的稀薄) を捕食し，老大魚は大型魚 (V·A 濃度比較的濃厚) を捕食する機会が多いからますます肝臓中の V·A 濃度は老大魚程濃厚になるであろうとした。そして魚の生涯を通じて年令と肝油の V·A 濃度との関係は魚の生長曲線と関係ある一つの曲線によつて示されることを予想した。

* 東北海区水産研究所 (Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. Shiogama, Miyagi-ken, Japan).
東北海区水産研究所業績第 143 号

アブラガレイ (*Athresthes evermanni* JORDAN & STARKS) は深海性の魚でその肝臓および幽門垂 (腸を含む) に高単位の V·A を天然に蓄積する魚種であるが，筆者はこの魚種を例にとつて，肝内臓中への V·A の蓄積と消耗との関係を論理的に考察したのでその結果をここに報告する。

解析の資料

考察の基礎となるデータは山村・武藤のアブラガレイのビタミンA含有量第1報[8] および第2報[9] より採つたが，これを1尾当りの総A量と体長との関係として，漁場，季節，雌雄，成熟度および深度別にプロットしたものが Fig. 1 (1～12) である。

1尾当りの総 A 量はアブラガレイの V·A は 99% が肝臓および幽門垂 (腸を含む) に集中して存在するので，肝臓中の V·A 量〔肝油の *A* 濃度 (I.U.) × 肝臓含油率 × 肝臓重量 (g)〕と幽門垂の V·A 量〔幽門垂油の *A* 濃度 (I.U.) × 幽門垂の含油率 × 幽門垂重量 (g)〕の和を以てした。

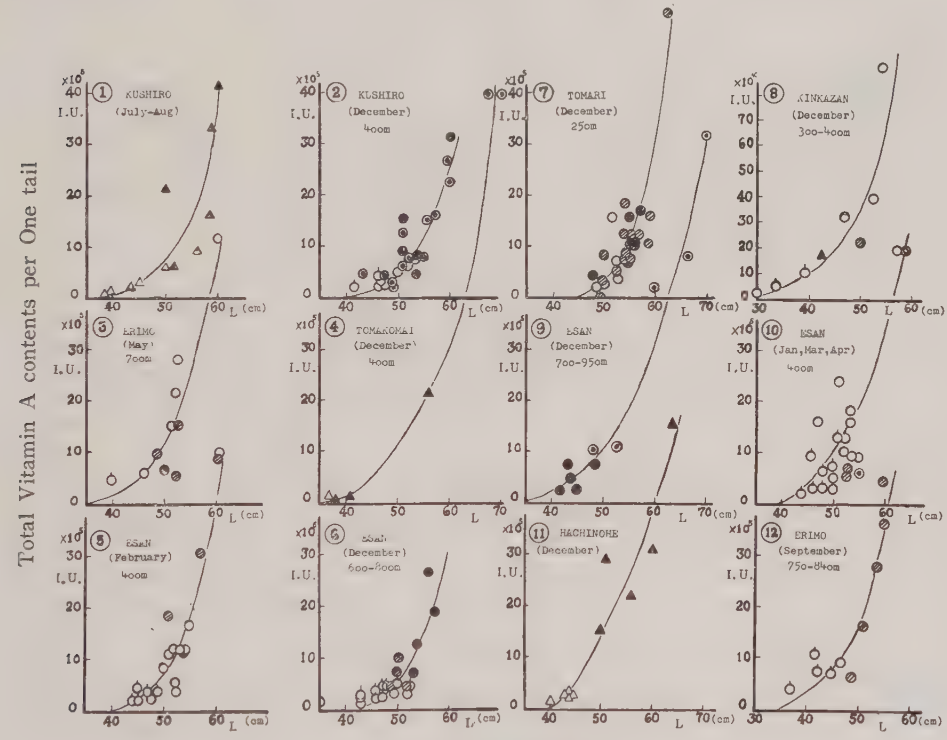


Fig. 1. The relation between total-vitamin A contents per one tail and body-length of the oil-sole (*Athresthes evermanni*), arranged in order of the fishing ground, month and depth.

Symbols ○ ◍ ● ⊙ ◎ denotes the degree of maturity (a, b, c, d, e) of the female fish respectively.

Projected circle is the mark of the male one and black and white triangles show the female and the male whose maturities are unknown.

考　　　察

Fig. 1 を通覧して体長 (35～70 cm の範囲) と総 A 量との間には一つの曲線的関係が存在することが窺われるが，これは恐らく餌料中より摂取された V·A と体内において消費された V·A との差の各個体の採捕時における平衡状態を示しているものと考えられる。

そこで今，体重 W の個体がとる餌の量を単位時間当り αW とすると，この餌からとられる V·A 量は餌の A 濃度を f として $\alpha f W$ となる。

個体の体重を維持するだけに $\alpha' W$ の餌を必要とするならば，この個体の単位時間当り体重の増加は

$$\beta \frac{dw}{dt} = (\alpha - \alpha')\,W$$

で与えられる（α は餌料の摂取率，α' は個体の生命を維持するための最低の餌料摂取率，β は体重の増加に関する係数)。

これだけの生長に対して V·A が $\gamma \dfrac{dw}{dt}$ だけ消費されるので

$$\frac{dA}{dt} = \alpha f W - \gamma \cdot \frac{\alpha - \alpha'}{\beta} W$$

$$= \left[\alpha f - \frac{\gamma}{\beta}(\alpha - \alpha')\right] W \qquad (1)$$

と書くことができる（γ は体内における V·A の消耗に関する係数)。

ここで

$W \propto l^n$ （l は体長),

$l = l_\infty(1 - e^{-\varepsilon t})$ （l_∞ は最大体長，ε は生長曲線より求められる係数)

とおくと

$$\frac{dA}{dl} \cdot l_\infty \varepsilon e^{-\varepsilon t} = \left[\alpha f - \frac{\gamma}{\beta}(\alpha - \alpha')\right] l^n$$

すなわち

$$\frac{dA}{dl} = \frac{\alpha f - \frac{\gamma}{\beta}(\alpha - \alpha')}{\varepsilon} \cdot \frac{l^n}{l_\infty - l}$$

これを積分すれば

$$A = \frac{\alpha f - \frac{\gamma}{\beta}(\alpha - \alpha')}{\varepsilon} \cdot \int \frac{l^n}{l_\infty - l}\,dl$$

となる。

そこで
$$\frac{\alpha f - \frac{\gamma}{\beta}(\alpha - \alpha')}{\varepsilon} \equiv k, \qquad \frac{l}{l_\infty} \equiv \lambda$$

とおくと

$$\frac{A}{k} = \int \frac{l_\infty^n \lambda^n}{l_\infty(1-\lambda)} \cdot l_\infty d\lambda$$

したがつて

$$\frac{A}{l_\infty^n k} = \int \frac{\lambda^n}{1-\lambda} d\lambda \equiv \phi(\lambda) \qquad (2)$$

と導かれる。

今，$n = 3$，$\lambda \geqq .5$* で上の関係が成立つ場合

$$\frac{A}{k l_\infty^3} = \left| \lambda + \frac{1}{2}\lambda^2 + \frac{1}{3}\lambda^3 \right|_{.5}^{\lambda} \qquad (3)$$

となり，これを計算すると

* $\lambda = .5$ はほぼ成熟体長に相当する。

Table 1.

λ	$\frac{A}{k l_\infty^3}$
.5	0
.6	.20
.8	.64
1.0	1.18

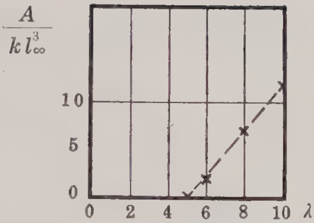


Fig. 2. The relation between $\frac{A}{k l_\infty^3}$ and λ.

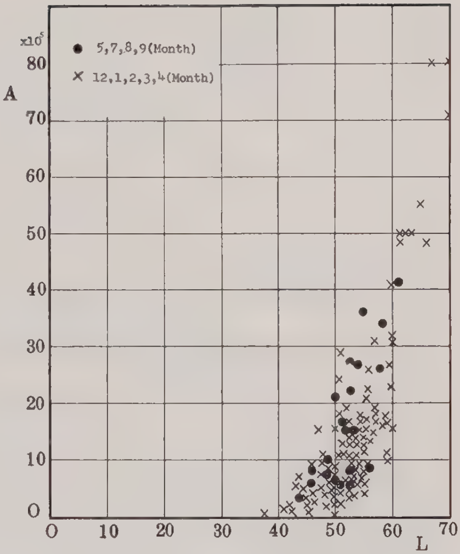


Fig. 3. The relation between total-vitamin A contents (A) and body-length (L) being plotted with respect to the season of catch.

のごとく直線関係が満足されれば，(2) 式はなり立つ (Table 1, Fig. 2)。

今，k について考えるのに，α は餌の多寡，f は餌の種類によるが，α', β, γ は一つの魚種については変らない。

ε (生長曲線より求められる係数)，l_∞ (最大体長) は同じ魚種では一定と見做してもよいであろうが，雌雄によつては異なることもあろう。したがつて雌・雄別に考えれば，k は V·A 給源である餌料の多寡によつて支配され，V·A を含む餌が多いほど k の値は大きい。

しかし $\frac{l}{l_\infty}$ が .5 から現在にいたるまでには移動も少くないし，年を重ねるので，採捕された季節と漁場による影響は明瞭には現われないであろう。

ただしここで A を肝臓中に含まれる V·A 量とすると，成熟の過程によつて変るので，この意味では k が季節によつて違うことが予想される。

Fig. 3 は雌について季節別にプロットした A–l の関係であつて，大体上に導かれたと似た様子である— $\frac{A}{k l_\infty^3}$ と λ との関係は，現在のデータからはプロットできないので近似的にAと l の関係をプロットして $\frac{A}{k l_\infty^3}$ との関係を代表させることにした。すなわち Fig. 3 で見ると季節の影響はあまり明瞭ではない。点がばらばらなのは k も l_∞ も個体によつて異なる結果である。

本稿をとりまとめるに当り懇篤なる御教示を賜わつた東京水産大学名誉教授田内森三郎先生，御校閲を賜わつた東北海区水産研究所長木村喜之助博士，有益なる御助言を寄せられた京都大学川上太左英教授に謹しんで感謝の意を表する。

文　　献

1) N. B. Guerrant: *J. Nutrition*, **37**, 37～51 (1949).
2) C. A. Baumann, B. M. Riising and H. Steenbock: *J. Biol. Chem.*, **107**, 705～715 (1934).
3) J. Golding, S. K. Kon, and J. E. Campion: *Chem. Ind.*, **55**, 400～401 (1936).
4) J. M. Lemley, R. A. Brown, O. D. Bird and A. D. Emmett: *J. Nutrition*, **33**, 53～64 (1947).
5) A. W. Davies and T. Moore: *Biochem. J.*, **42**, 1 xiii (1948).
6) P. R. Frey, R. Jensen and W. E. Connell: *J. Nutrition*, **34**, 421～430 (1947).
7) 東　秀雄: 日農化, **16**, 1181～1188 (1940).
8) 山村彌六郎・武藤清一郎: 東北水研研報, **4**, 299～315 (1955).
9) ———・———: 同上, **12**, 121～139 (1958).

柔魚内臓の生化学的研究—III.

蛋白質分解酵素について（その１）

高　橋　　喬

(1960 年 1 月 5 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE VISCERA OF CUTTLE-FISH, *OMMASTREPHES SLOANI PACIFICUS*—III. ON THE PROTEOLYTIC ENZYMES OF VISCERA (PART—1)

Takashi TAKAHASHI*

Few reports have been published regarding the investigation on the enzymes of viscera of cuttle-fish, *Ommastrephes sloani pacificus*. OSHIMA et al[1] have pointed out the existence of proteinase and amylase in the viscera, and NARA[2] has investigated on the proteolytic enzymes of the liver and reported the presence of cathepsin like enzymes.

The present paper deals with the proteolytic activity shown by extracts of digestive organs (stomach, blind sac and intestine, pancreas, and liver) of cuttle-fish. The results are shown in Figs. 1 and 2, Table 1, and summarized as follows:

1) The optimal pH for casein digestion by stomach extract and by extract of blind sac-intestine was in the range of 8.0~8.5 and 8.0~8.5, respectively; by pancreatic extract 6.5~7.0 and 8.0~8.5; by liver extract 2.5 and 5.0~6.0 (Fig. 1).

2) The optimal temperature for casein digestion by the extract of stomach or blind sac-intestine was 47.5°C at pH 8.0; of pancreas 42.5°C at pH 8.0; of liver 40.0°C at pH 2.5 and 50.0°C at pH 6.0 (Fig. 2).

3) In "unit activity" which refers to the number of proteinase unit per *ml*. of original extract the blind sac and intestine was the highest among these organs, but the liver was from ten to ninety times higher than the other three organs in "total activity" which is the product of the "unit activity" and weight of the organ (Table 1).

スルメイカ内臓酵素についてはその研究例ははなはだ少ない。1930 年大島等[1]が全内臓中に蛋白質分解酵素，澱粉分解酵素の存在を報告しており，肝臓酵素については 1958 年奈良[2]の研究があるのみである。スルメイカは高等動物，魚類等とは異なり，その肝臓は内臓の大部分を占めているが，内臓各器官の含有酵素を研究することは，スルメイカの生理学的特徴を知るためにもまた利用上からも重要なことである。本報においては各器官の有する蛋白分解酵素についてその proteolytic action の諸条件を検討したが，つぎにその結果の一部を述べる。

実　験　の　部

実験材料: 実験に供したスルメイカは 1958 年 12 月から 1959 年 2 月までの間に三重県尾鷲市付近で漁獲された可及的新鮮なものを使用した。

酵素液の調製: 外套膜を切り開き取り出した内臓を注意しながら肝臓，膵臓，盲嚢および腸，胃の 4 つの部分に分割した後，消化管中の（主に胃であるが）固形物を指先で軽るく押し出し除去した。盲嚢は胃と腸との間にあつて，胃とは大きな開口を以つて，また腸とは小さな開口を以つて通じているが胃との境界はあまり明瞭ではない。腸は極めて小さく高等動物のいわゆる直腸に相当する部分であるように考えられたので，

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ., Mie).

腸は盲嚢から切りはなさず一緒にしたまま試験に供した。これ等各器官をおのおの等量の海砂とともに乳鉢ですりつぶした後，2倍量の 87% グリセリンを加えてさらに磨潰し，これに3倍量の水を加えて均一にし 30°C の水浴中で3時間抽出した。後これを 3,000 回転 10 分間遠心分離して得た上澄液を酵素原液とした。activity の測定に当つては 0.2M 食塩水を以つて適宜稀釈して用いた。

activity の測定性および表示法: activity の測定は casein-Folin 呈色 A 法[3]により測定した。すなわち 0.6% 基質溶液 5ml に酵素液 1ml を加え反応させた後，0.44M トリクロール醋酸 5ml を加えて未消化蛋白を沪別し，沪液中の分解生成物濃度を Folin 呈色法により比色定量し，これより activity を求めた。activity の表示は，基質 0.5% 溶液中で1分間にチロシン 1γ 相当量の Folin 呈色を示す非蛋白性物質を生成するごとき activity を 1 proteinase unit として，便宜上原酵素液 1ml 当りに換算した unit activity で表わした。

緩衝液および基質溶液: 緩衝液は pH 8 以上では 0.05M アンモニウム塩緩液，pH 7.8～5.5 は 0.05M 燐酸塩緩衝液，pH 3.5～2.0 では 0.05M 乳酸溶液，pH 2.0 以下では 0.05M 塩酸を用い，基質 casein はこれ等緩衝液の 0.6% 溶液として用いた。基質溶液の調製およびその pH の調整は酵素研究法[4]に記載せる方法にしたがつた。

結果および考察

1. 各器官液汁の pH

上記各器官の液汁の pH を東洋沪紙の pH 試験紙で測定した。胃，盲嚢はこれ等を切り開き内容の液汁または器官壁について，肝臓，膵臓はこれ等をすりつぶした時の磨砕物についておのおの測定したものである。結果は何れの器官も pH 5.8～6.0 を示した。

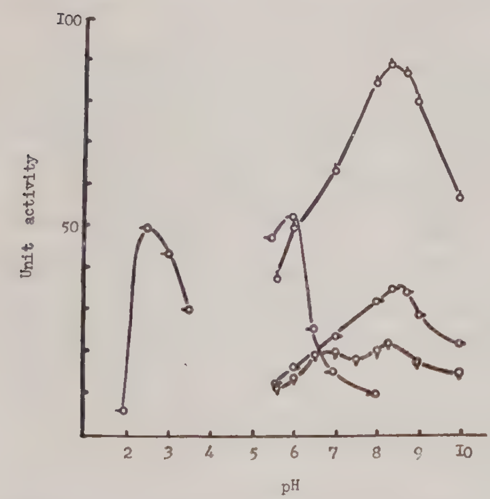


Fig. 1. The effect of pH on the proteolytic activity of extracts of various organs. (substrate: casein, at 30°C, 20 hrs.)
–○ liver, ♂ blind sac and intestine, ○– stomach, ♀ pancreas.
"Unit Activity": Proteinase unit per ml of original extract which was obtained by extracting the ground organ with 5 times weight of 35% glycerol.
One proteinase unit was defined as activity which liberated per minute the hydrolyzated products of protein which give the same Folin color as γ of tyrosine.

2. proteolytic activity と pH との関係

内臓各器官の酵素液について 30°C, 20 時間基質と反応させた時の activity と pH との関係を検討した。使用酵素液は膵臓では原酵素液を 150 倍に，その他の器官では何れも 450 倍に稀釈して実験に供した。結果は Fig. 1 に示す通りである。肝臓以外の器官ではその作用 pH 域は 6.5～10.0 付近までであるが，アルカリ側で良く作用し，至適 pH はいずれも 8.3 前後にあり，膵臓においてはこのほかに 6.5～7.0 付近にも activity–pH 曲線の山が見られた。胃については pH 3.5 以下では activity はほとんど見られなかつた。肝臓においてはその作用 pH 域は 2.5～7.5 付近までで，酸性側で良く作用し，activity の至適 pH は 2.5 および 5.0～6.0 付近にある。なお 30°C, 20 分間基質と反応させた時の activity と pH との関係をも調べたが，その結果は肝臓以外の器官では 20 時間反応させた時の結果と同一の傾向を示し，至適 pH 付近では作用時間の相違による activity の差異は見られなかつた。しかしながら肝臓の場合には 20 分間反応させた時と 20 時間反応させた時とでは，pH と activity との関係は全く異なつた様相を呈し，至適 pH において作用させた時でも作用時間が相違すると

activity は大きく変ることを観察した。このことについては次報において報告する予定である。

3. **proteolytic activity と温度との関係**

内臓各器官酵素液の proteolytic activity の至適 pH において activity におよぼす温度の影響を検討した。 Fig. 2 は作用時間 3 時間における activity–温度曲線を示したものである。使用酵素液は膵臓では 150 倍に，その他器官では 300 倍におのおのの原液を稀釈を稀釈して使用した。 3 時間における activity の至適温度は膵臓では 42.5°C, 胃，盲嚢および腸では何れも 47.5°C であつた。また肝臓の場合は pH 2.5 では 40°C, pH 6.0 では 50°C にその至適温度がみられ，この点では相当高い activity を示すことが観察された。

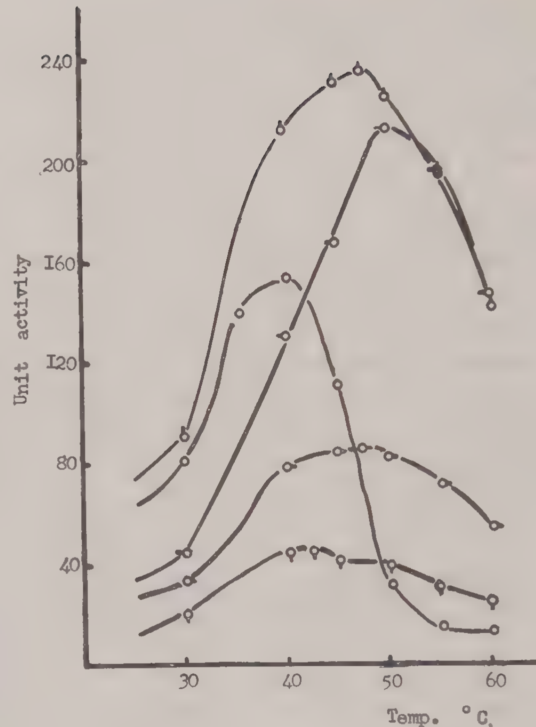


Fig. 2. The effect of temperature on the proteolytic activity of extracts of various organs (substrate: casein, for 3 hrs.).
-o liver, at pH 6.0. o liver, at pH 2.5.
blind sac and intestine, at pH 8.0.
o- stomach, at pH 8.0. pancreas, at pH 8.0.

Fig. 1, Fig. 2 の結果から胃の酵素液（抽出液）はいわゆるペプシン系の酵素が働くような酸性側では全く activity を示さず，その作用条件は盲嚢および腸の酵素液が示す proteolytic action の諸条件とほとんど同一であることを知つた。そしてまた胃の酵素液の澱粉ならびに醋酸エチルに対する加水分解の作用条件も盲嚢および腸の酵素液のそれとほとんど同一であることも観察しているが[5]，これ等のこと，盲嚢には肝液および膵液を分泌する輸胆官の開口が見られ常に粘稠な液汁が充満されており，しかも前記のように盲嚢は胃と大きな開口をもつて連続しておる等のことを考え合わせると，スルメイカの胃における蛋白質の消化は盲嚢に分泌される酵素によつて行なわれるものではなかろうかと思われる。また肝臓，膵臓の酵素液ではこれ等 proteolytic activity に対する至適 pH が何れも 2 つ見られ，これ等 pH における至適温度もおのおの異ることが分つた。従来カテプシンと総称される組織中の蛋白質分解酵素は近年に至り不均一性[6]であることが明らかにされているが，スルメイカのこれ等器官においてもその含有する蛋白質分解酵素は単一なものではなさそうに思われる。

4. **内臓各器官の proteclytic activity の比較**

現在スルメイカ内臓は自己消化により液化され，利用されているが，液化の目的を以つて内臓酵素が利用される場合，これ等器官中何れの器官の酵素が最も強く働くかを考察した。Table 1 は 30°C, 20 時間のそれぞれの器官酵素液の至適 pH (肝臓は 6.0) における activity を測定して proteolytic action の強さを比較した結果である。表中器官の total activity の比は unit activity と器官重量との積を求め，これ等積中最少の値を示した膵臓の積を 1 として，他の器官の積をそれぞれの比率で示したもので

Table 1. Comparison of proteolytic activity among various organs of cuttle-fish.

	Unit activity	Ratio of Weight	Ratio of Total activity
Liver	53.7	38.5	89
Pancreas	23.9	1	1
Stomach	36.8	2.2	3.5
Blind Sac and Intestine	90.6	1.8	7

"Total Activity": The product of "unit activity" and weight of organ.

ある。unit activity は盲嚢および腸が最大であり肝臓がこれにつぐが，total activity においては肝臓が最大で盲嚢および腸，胃，膵臓の順に小さくなる。内臓中肝臓は最大の器官であり，液化に当つては肝臓の酵素が最も大きく作用するであろうことは容易に考えられるところであるが，肝臓の total activity は実に他の器官のそれ等の 10 倍乃至 90 倍であることを知つた。

要　　約

スルメイカの胃，盲嚢および腸，膵臓の抽出液について proteolytic action の諸条件を検討しつぎの結果を得た。

1) casein に対するこれ等抽出液の proteolytic activity の至適 pH は胃，盲嚢および腸では 8.3 付近にあり，膵臓では 8.3 および 6.5〜7.0 に見られ，肝臓では 2.5 および 5.0〜6.0 付近にあつた。

2) これ等抽出液の proteolytic activity の 3 時間における至適温度は胃，盲嚢および腸では 47.5°C，膵臓では 42.5C，肝臓では pH 2.5 においては 40°C，pH 6.0 では 50°C にあつた。

3) これ等の結果から，胃における蛋白質の消化はペプシン系酵素によるものでなく，盲嚢に由来する酵素により行なわれるものと推定される。

4) 各器官の total activity を検討したところ，肝臓の total activity は他の器官の 10〜90 倍で内臓の液化に際しては肝臓酵素が最も強く作用することを知つた。

本研究の終りにあたり，御懇切なる御指導を賜つた本学立野新光教授に深謝致す次第である。

文　　献

1) 大島幸吉・里館健吉・板谷真一： 札農林，第 99 号，40 (1930).
2) 奈良　盛： 北海道学芸大 (II)，8，35 (1958).
3) 赤堀四郎編： 酵素研究法 2，朝倉，東京 (1956)，pp. 239.
4) ――――： 同上，pp. 241.
5) 高橋　喬： 未発表.
6) EMIL L. SMITH: The Enzymes Vol. 1, Part 2, (edited by JAMES B. SUMNER, KARL MYRBÄCK), (1951), pp. 857.

柔魚内臓の生化学的研究—IV.

蛋白質分解酵素について（その2）

高　橋　　喬

（1960 年 1 月 5 日受理）

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE VISCERA OF CUTTLE-FISH, *OMMASTREPHES SLOANI PACIFICUS*—IV. ON THE PROTEOLYTIC ENZYMES OF VISCERA (PART—2)

Takashi TAKAHASHI*

The experiments described below deal with the proteolytic activity shown by liver extract of cuttle-fish. The results are summarized as follows:

1) As shown in Fig. 1, it was found that the optimal pH of enzymatic activity for digestion of casein or hemoglobin by liver extract and the value of activity which was shown at the same pH changed with the time of reaction.

2) The relationship between the degree of casein hydrolysis and the time of reaction was shown in Fig. 2. From the results it is evident that the activity is different between the initial stage (0～40 min.) and the subsequent one, the activity in the latter being 1.7 times stronger than that in the former.

3) From the results described in this paper and previous one[1] it may be concluded that the desirable pH value is about 5 and temperature is 50°C for autlyzation of cuttle-fish viscera (Fig. 3 and Table 1).

スルメイカ内臓各器官の proteolytic activity を検討した結果，器官の total activity では肝臓が他の器官よりはるかに高いことをさきに報告したが[1]，ここでは引続き肝臓抽出液について proteolytic activity を検討するとともに，その結果並びに既報[1]の結果を内臓の自己消化による液化と関連づけて考察し若干の知見を得たので報告する。

実験の部

実験材料: 実験に供したスルメイカは 1958 年 12 月から 1959 年 5 月までの間に，三重県尾鷲市附近で漁獲された新鮮なものを用いた。

実験方法: 試料液（抽出液）の調製法，proteolytic activity の測定および表示法は前報[1]と同様である。基質としては casein のほかに hemoglobin（中京化成の市販品をそのまま用いた）をも使用した。hemoglobin 使用の際は pH 8.0～6.0 の間は 0.05M 燐酸塩緩衝液を 6.0～3.0 の間は 0.05M 醋酸緩衝液をそれぞれ緩衝液として用いた。基質溶液の調製は酵素研究法[2]に記載されている方法にしたがつた。

結果および考察

1. 肝臓抽出液の proteolytic activity と pH との関係

肝臓抽出液の proteolytic activity と pH との関係を検討した結果は Fig. 1 のようである。Fig. 1 は casein に対して 30°C で 20 分，4 時間，20 時間各々作用させた時の，hemoglobin では 30°C で 20 分，

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ., Mie).

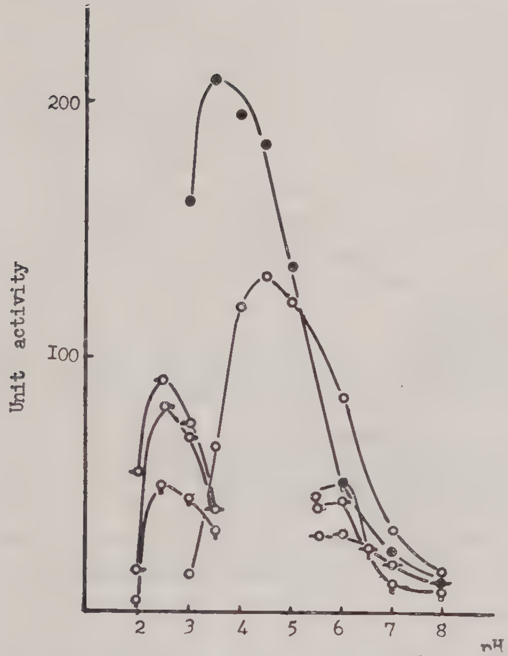


Fig. 1. Proteolytic activity-pH curves for the enzymatic hydrolysis of casein and denatured hemoglobin by liver extract (at 30°C).
-o casein, for 20 minutes.
o- casein, for 4 hrs. ♀ casein, for 20 hrs.
● denatured hemoglobin, for 20 minutes.
○ denatured hemoglobin, for 20 hrs.

"Unit Activity": Proteinase unit per ml of original extract which was obtained by extracting the ground organ with 5 times weight of 35% glycerol.

One proteinase unit was defined as activity which liberated per minute the hydrolyzated products of protein which give the same Folin color as γ of tyrosine.

20 時間作用させた時の各々の activity–pH 曲線を画いたものである。作用時間 20 分間の場合は原酵素を 7.5 倍に，4 時間では 75 倍に，また 20 時間の場合には 450 倍にそれぞれ稀釈したものを酵素液として使用した。この結果から知られるように activity と pH との関係は作用時間により全く異つて来る。casein を基質とした場合には反応の初期 (20 分) では至適 pH は 2.5 にあつてここでは高い activity を示すが，pH 5〜6.0 附近 (casein を基質とした時には pH 3.5〜5.5 の間は測定不能であるからはつきりしたことは分らないが) には activity–pH 曲線の山は見られない。しかし作用時間の延長にしたがい pH 5〜6.0 附近にも activity–pH 曲線の山が見られれるようになる。また hemoglobin に対しては，反応の初期ではその至適 pH が 3.5 附近に見られるが，20 時間作用させた場合その至適 pH は 4.0〜4.5 にあつて，casein の場合と異り至適 pH は一つとしか見られなかつた。さらにまた作用時間の長短により activity の至適 pH が異なるのみでなく，activity も変つて来ることが観察された。作用時間の相違によつて activity に差異を生ずることは考えられることであるが，スルメイカの肝臓においては pH 域によつてその変化の傾向は全く逆であり，このような現象は肝臓以外の器官では見られないことであつた。すなわち casein を基質とした場合には pH 3.5 以下と pH 6.5 以上の範囲では作用時間の延長にしたがい activity が減少し，pH 5.0〜6.5 までの間は逆に activity が高くなる。hemoglobin では大体 pH 5.0 以下では activity が減少するに反し，これ以上では時間の延長にしたがい高くなる。Fig. 1 に示した activity–pH 曲線からも知られるように，casein および hemoglobin を基質とした場合短時間の作用できわめて高い activity を示す pH 2.5 および pH 3.5 は activity の至適な pH 価であるが，安定な pH 価ではないように考えられる。(これらの pH で 20 時間作用させた時に示す activity は 20 分間作用時に示される activity の約 50〜60% の値を示した。) ところがこれと逆に，casein を基質とした場合も hemoglobin を基質とした合合もそうであるが，pH 5.0〜6.0 においては作用時間の延長に従つて activity は増大するが 20 時間作用させた場合には 20 分間作用させ時の約 1.7 倍の activity を示した。以上述べたことと，すでに報告[1]したように肝臓抽出液の proteolytic activity の至適温度は casein 基質では pH 2.5 において 40°C, pH 6.0 においては 50°C を示すこととを考え合わせると，casein 基質に対し proteolytic activity の至適 pH が 5.0〜6.0 で至適温が 50°C である酵素と，至適 pH が 2.5 で至適温度は 40°C を示す酵素とは同一なものではなさそうに思われる。

2. activity と時間との関係

pH 5〜6 附近において肝臓酵素液の proteolytic activity は作用時間の延長にしたがい，著しく増大す

る傾向にあることを観察したが，この点をさらに検討した。Fig. 2 は原酵素液を 32 倍に稀釈したものを酵素液とし，pH 6.0, 30°C で casein に作用させた時の optical density の増加と時間の経過との関係をあらわしたものである。これから知られるように，0～40 分までの間もまた 40 分～5 時間までの間も optical density の増加は時間と大体比例的な関係にあるが，これらの optical density の増加の傾向は異つている。各時間間隔の単位時間当り（1 分間）の unit activity を示すと 0～20 分の間では 31.6, 20～40 分では 31.6, 40～60 分では 46.6, 60～90 分で 50, 90 分以後 30～60 分間隔では何れも 50～51 を示し，反応開始後 1 時間以後ではその activity が反応初期に示す activity の約 1.7 倍になることが分つた。5 時間以後については実験を行わなかつたが，前項における試験結果を考慮に入れると，5 時間以後少くとも 20 時間までは単位時間当りの activity は 50～51 を示すものと考えられる。また前項における試験では反応時間が相違するのみでなく，酵素液の濃度も異つていたので，酵素液の濃度と optical density との関係をも調べたが，これらは全く比例的な関係にあつた。したがつて前項において観察された現象は酵素液の濃度の差によつて生ずるものでなく時間的な関係において生ずるものと考えて差支えないと思う。反応開始後 40～60 分までの間に急激に activity が高くなり，それ以後においてはほとんど変化の見られない原因については今後さらに検討したい。

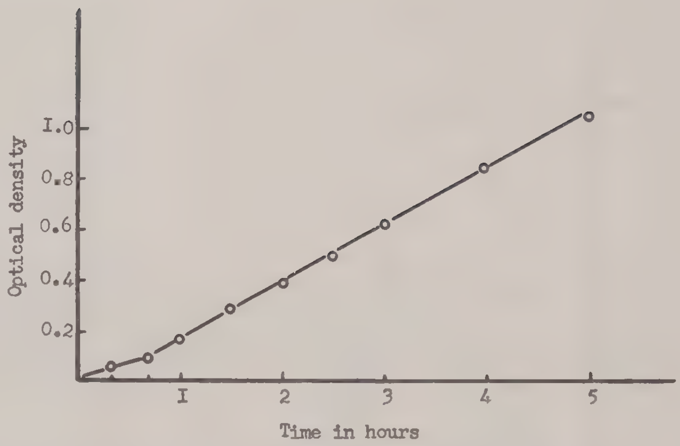


Fig. 2. Time curve of enzymatic hydrolysis of casein by liver extract at pH 6.0, 30°C.

3. 内臓液化条件に関する考察

先に述べたように，スルメイカ内臓各器官の total activity においては，肝臓が他の器官よりはるかに高い[1]から内臓の自己消化による液化は肝臓の proteolytic activity が最も高い値を示すような条件で行うのが妥当であると考えられる。しかしながらスルメイカの盛漁期においては内臓は 30% 以上の油分を含有しているので[3]，油の品質低下を最少限にとどめることにも考慮を払う必要がある。スルメイカ肝臓抽出液のトリプチリン分解に対する至適 pH は 7.5～7.8 で，至適温度は 30°C 附近にあり，かなり低温においてもその activity はさほど減少しないが，40°C 以上の高温においてはその activity は急激に減少する[4]。したがつて内臓の液化は高温においてできるだけ短時間に行うことが望ましい。これらの結果から hemoglobin を基質として 50°C で activity と pH との関係を検討した。反応は 1, 2, 3 時間行つたが，これらの結果を示すと Fig. 3 のようで

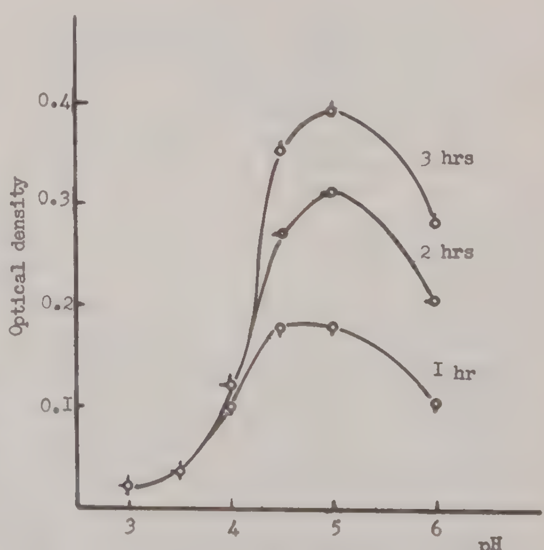


Fig. 3. Effect of pH and incubation time on proteolytic activity of liver extract.
substrate: denatured hemoglobin.
temperature: 50°C.

ある。これから知られるように3時間までは pH 5.0 附近において最も高い activity を示している。そして pH 4.5 以下では急激に activity が減少する。pH 5.0 における各時間毎の単位時間（1分間）当りの unit activity を示すと 0〜1 時間では 622, 1〜2 時間では 460, 2〜3 時間では 280 となり，これ以上の時間の延長は内臓の液化にとつてあまり意味がないように考えられる。今までの試験結果は casein, hemoglobin について行つたものであるが，実際に肝臓を自己消化させた場合は Table 1 のごとき結果となる。Table 1 は肝臓を2倍量の水とともに5分間ブレンダーで処理して得られた均一な懸濁液 1 ml を緩衝液 5 ml 中に入れ 50°C で3時間自己消化させ（反応液中の蛋白濃度は大体 0.5% 位になる）後，これに 0.44 M トリクロール醋酸を 5 ml 加え除蛋白した沪液について，生成された可溶性窒素化合物の量を Folin 試薬により呈色させて比色測定し，これをチロシン量としてあらわしたものである。この結果から pH 4.5〜5.0 においてチロシンが最も多く生成されることがわかつた。したがつて自己消化による内臓の液化は pH 5.0 附近で温度 50°C で行うことが妥当であろうと考えられる。

Table 1. The effect of pH on the autolysis of liver.

pH	3.0	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
γ of produced tyrosine	490	825	1045	1045	880	680

Autolysis of liver was carried out at different pH values for 3 hrs. at 50°C. The extent of autolysis was observed by measuring the hydrolytic products of protein which was expressed as γ of tyrosine according to the colorimetric method with the phenol reagent of Folin.

要　　約

スルメイカ肝臓抽出液について proteolytic action の諸条件を検討し，その結果に関連してスルメイカ内臓の自己消化による液化条件についても考察した。

1) casein, hemoglobin を基質として肝臓抽出液の proteolytic activity と pH との関係を調べたが，この関係は作用時間の相違により異つて来る。すなわち，作用時間の相違により至適 pH が異つて来るのみならず，作用時間の延長にしたがい activity の低下する pH 域と逆に高くなる pH 域とがあることが分つた。

2) casein を基質として，作用時間の延長にしたがい activity が高くなる状況を観察したが，反応開始後 40 分から 60 分までの 20 分間において急激に activity が高くなり，その後は変化しないことが観察された。

3) 内臓を自己消化により液化させる場合は pH 5.0 附近で温度を 50°C に保つことが妥当であると考えられる。

最後に本実験を行うに当り，終始御懇切なる御指導を賜わつた本学立野新光教授に深謝する次第である。

文　　献

1) 高橋　喬：本誌 **26**, 500 (1960).
2) 赤堀四郎編：酵素研究法 2, 朝倉，東京 (1956), pp. 239.
3) 高橋　喬：本誌, **20**, 888 (1955).
4) 高橋　喬：未発表.

塗料原料とする魚油塩素化物の製造に関する研究—VII.
高融点塩素化物の製造

鈴　木　康　策

(1960 年 1 月 19 日受理)

PREPARATION OF A COATING MATERIAL BY CHLORINATION OF FISH OIL—VII.
PREPARATION OF A CHLORINATION PRODUCT WITH HIGH MELTING POINT

Kōsaku Suzuki*

It is desirable for a chlorination product of fish oil available as an ingredient of fire-retarding paint to have not only incombustibility but a high melting point. Melting point of the product formerly reported was low, 54°C. But a product the melting point of which is 141°C is obtainable, when fish oil is chlorinated considering the following data obtained in present study:

(1) BPO, benzoyl peroxide, added to fish oil dissolved in a solvent is effective to raise a melting point of the chlorination product.

(2) Chlorination temperature is to be raised gradually from 50～60°C up to 150°C without causing the reaction mixture to boil.

(3) A chlorination product of higher melting point is prepared by chlorination of fish oil polymerized by using di-*t*-butyl peroxide. When fish oil is polymerized so highly that it becomes solid and insoluble, it is no longer suitable to be used as raw material. Therefore, the polymerization should be so controlled as not to make the oil insoluble.

(4) As the solvent *o*-dichlorobenzene is recommendable.

(5) Strong phosphoric acid, being effective to prepare the chlorination product of a high melting point, is to be added to the reaction mixture at the end of chlorination at 90°C.

既報[1]のように魚油塩素化物は防火塗料の一原料として使用することができる。そのためにはもちろん不燃性であることが十分必要であるが，加熱に際して塗膜が流れぬように，融点はなるべく高いことが望ましい。しかし，先に得た塩素化物の融点は約 54°C[2] で，この点期待にそわない。本報告はこの点の改善に関するもので，本実験中特に述べないが，生成物はもちろん不燃性を失ってはならない。各種の反応条件により生成物の組成は必ずしも同一ではないが，魚油を原料とし不燃性高融点の塩素化物を得ることを目的とし，得られた生成物の組成の異同は一応問わないこととする。

実　　　験

1. BPO（過酸化ベンゾイル）の影響

サメ油の四塩化炭素溶液に塩素を通じて常法により塩素化物を得るに際し，反応液中に BPO を溶解して塩素化し，生成物の融点を毛細管法で測定して Table 1 の結果を得た。ただし，塩素化は 50°C の水浴上で行ない，反応終了後，反応混合液を 100°C, 1.5 cmHg で蒸発して残渣を生成物とした。同表によると

* 東京水産大学沼津実習場 (Numazu Fish. Lab., Tokyo Univ. Fish., Numazu, Shizuoka Pref., Japan).

Table 1. Effect of benzoyl peroxide added to reaction mixture on melting point of the product.

Reaction mixture			Product	
Shark oil	CCl_4	BPO	Chlorine content	mp.
8.0g	24cc	0g	63.7%	54～55°C
〃	〃	0.05	62.7	57～58
〃	〃	0.2	63.4	〃
〃	〃	0.5	64.5	67～68
〃	〃	1.0	61.3	〃

Reaction mixtures were chlorinated by aeration of chlorine on a water bath kept at 50°C.

BPO は生成物の融点上昇に効果があり，使用適量を計算すると原料油に対し約6% と判定される。生成物の塩素含有率と融点との間には現在の資料の範囲では明確な関係は認められない。

BPO はしばしば重合開始剤として用いられるので，BPO を加えた反応溶液を加温するだけで塩素化することなく放置すれば，何等かの作用があると思われる。これは製造工程がこのような段階で中断された時に問題となるので，その影響を検討して見た。反応液に BPO を溶解したままある時間放置した後，塩素化を行なつて得られた生成物の融点は Table 2 のように，反応液を 50°C (塩素化を行なう温度) に 16 時間 (大体一晩) 保つた場合は融点の低下を招き (Table 1 と比較)，反応液を沸点に維持した時，1 時間では融点に影響なく，3 時間では融点が低くなり，高温よりも放置時間の方が融点低下に積極的に影響する。したがつて BPO 添加後は反応液を放置することなく，すぐ塩素化をはじめるよう注意すべきである。

Table 2. A few properties of the chlorination products obtained from the reaction mixtures subjected to some preliminary treatment, respectively.

Preliminary treatment of reaction mixture		Product	
Temperature	Time	Chlorine content	mp.
50°C	16 hours	59.6%	60～62°C
83.6*	1	61.6	67～68
〃	3	61.3	64～65

The reaction mixture consisted of shark oil 8g, CCl_4 24cc and BPO 0.5g. Chlorination was carried out at 50°C.
* boiling point of the mixture.

Table 3. Melting points of fish oil products chlorinated in the presence of added BPO at various temperatures, respectively.

Temperature	Product	
	Chlorine content	mp.
30°C	61.8%	55～57°C
50	64.5	67～68
60	60.6	76～77
70	59.8	61～63

Mixture of shark oil 8g, CCl_4 24cc and BPO 0.5g was chlorinated.

BPO を使わない場合，塩素化の適温は 50°C[2] であるが，BPO を用い，高融点の塩素化物を得るには Table 3 のように 60°C が適温である。BPO を使わない場合の塩素化の適温が 50°C であるから，反応液に BPO を加えずにまず 50°C で充分塩素化し，つぎに BPO を加え (割合は Table 3 に同じ)，温度を 60°C に上げてさらに塩素化したが，生成物の融点は 67～68°C にしか達せず，Table 3 の値のようには上らなかつた。つまり BPO は塩素化反応の最初から加えておかなければ効果がない。このようにして BPO の使用により塩素化物の融点を 20°C 以上引上げることができた。

2. トリクロルエチレンを溶剤とした場合

四塩化炭素のかわりにトリクロルエチレンを溶剤に使えば，BPO の存在において二量化[3] することもあり，溶剤自身塩素化されたり，溶剤が複雑に変化をうけるので，収得される魚油塩素化物は各種の混合物となり，四塩化炭素を溶剤とした場合と同一物ではないだろうが，やはり不燃性魚油塩素化物が生成される。よつて四塩化炭素使用の場合と同様にして塩素化物をつくり，融点を測定し Table 4 の結果を得た。この塩素化においては反応液の内部および液上に位する容器内壁に溶剤の塩素化物が白色固体となつて生成するが，これは昇華性のものである。このものを含んだ少量の反応液を約 10 倍量の四塩化炭素に溶解し，時計皿上で 110°C，30 分加熱し塗膜状の蒸発残渣を得る。昇華性物質の残存を避けるためには，この塗膜の厚さをなるべく薄く (大体 0.05mm 以内) する方がよい。Table 4 に挙げた融点はこの点に注意して得た薄

膜状の塩素化物を掻き取つて顕微鏡法で測定したものであるから，測定値には上述の昇華性物質の単なる混在による影響はないものと考える。すなわち，魚油塩素化物として No. 7 のように融点 100°C 以上のものが得られた。

なお Table 4 の試製品について見れば No. 3, 6, 7 のように塩素化を行なう温度が高いほど生成物の融点が高い。これに反し No. 9 では融点が低下しているが，この場合は反応液の沸点が所望の反応温度以下であつたため，反応液は沸騰しながら塩素化された。ゆえに反応液の沸点がもつと高く，沸騰せずに塩素化されたならば，さらに融点の高い生成物が得られるかも知れない。反応液を沸点において塩素化した場合と，最初低温において塩素化をはじめ段々と反応温度を上げて（沸点以下で）いつた場合とについて，生成物の融点を比較すれば Fig. 1 の通りである。この図はサメ油 4g, BPO 0.4g, 酢酸ビニール（平均重合度 1200）4g をトリクロルエチレン 20cc に溶解して塩素化し，前述のようにして薄膜状に得られた塩素化物の融点を反応時間に対応して示したもので，反応のはじめの方では生成物の融点が低いので省略した。反応液に酢酸ビニールを加えた理由は，Table 4 の場合反応液の沸点が 87°C で，塩素化しても余り上昇しないから，Table 4 の場合より高温でしかも反応液の沸点以下で塩素化を試みるためであり，また魚油塩素化物に対する添加物の相溶性を考慮したからである。この反応液の沸点は 83°C であるが，塩素化の進行につれて上昇する。図の No. 44 は最初から 130°C の加熱浴中で（したがつて反応液は沸騰しつつ）塩素化した場合であり，No. 45 はまづ 50°C において塩素化し，この塩素化（3.5 時間要した）が終つてから温度を 60°C に上げて塩素化し，同様にして 90°C, つぎに 130°C と反応温度をつねに沸点以下に保ちつつ徐々に上昇した場合である。 No. 45 では反応 6 時間にして生成物の融点は最高の 103°C に達した。No. 44 は 8 時間後に最高の 91°C になつたに過ぎない。No. 44 も 45 も融点が最高に達してから，BPO 0.2g 添加し塩素化を続けると，生成物の融点は図の点線のように上昇する。No. 45 の方が上昇著しい。

Table 4. Conditions of chlorination of shark oil in trichloroethylene and mp. of the product.

No.	Shark oil	$CHCl:CCl_2$	Temperature	BPO	mp. of product
1	4.0g	12cc	50°C	0g	74～76°C
2	〃	〃	〃	0.2	78～80
3	〃	〃	〃	0.4	84～86
4	〃	〃	〃	0.6	〃
5	0	〃	〃	0.4	——*
6	4.0	〃	60	〃	92～94
7	〃	〃	70	〃	104～106
8	〃	〃	80	〃	〃
9	〃	〃	90**	〃	90～92

* This product is sublimable.
** As bp. of the reaction mixture is 87°C, reaction temperature does not reach 90°C at the beginning, but rises gradually.

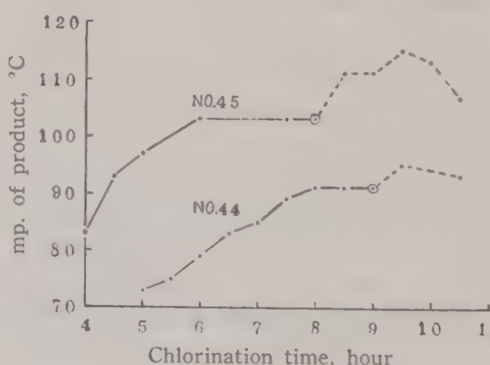


Fig. 1. Effect of chlorination temperature on mp. of the product.

No. 44····Reaction mixture was kept on a hot bath at 130°C throughout the chlorination, chlorinated proceeding under boiling.
No. 45····Reaction mixture was chlorinated at 50°C at first, and then additionally chlorinated at temperatures raised stepwise up to 130°C without boiling.
⊙····At this time, BPO was added by 0.2g.

生成物の融点が高くなつたことについては反応液に対する酢酸ビニール添加の影響を考えねばならないが No. 45 の塩素化においてこの添加量を 4, 3, 2, 1g と変えると，生成物の融点はそれぞれ 115, 121, 117, 117°C となり，魚油に対する酢酸ビニールの添加率が大（添加量 3g は魚油に対し 75%）である割合には生成物の融点が上がらないと言えるようである。

Table 5. Polymerization of shark oil in sealed tube.

	Shark oil	Di-*t*-butyl peroxide[4)]	Temperature	Time	Appearance of polymerized oil
A	4g	1cc	148～150°C	2hr.	yellow, solid
B	〃	〃	〃	1.5	yellow, very viscous, partly solid
C	〃	〃	〃	1.0	yellow viscous oil

Polymerized oil A contains a large amount of matter insoluble in trichloroethylene and oil B a little amount.

Table 6. Temperature and time applied to stepped chlorination of polymerized oil of Table 5.

Temperature	Time for which the oil was chlorinated at the specified temperature
50°C	0～3hr.
60	3～4
90	4～4.5
130	4.5～5.5
150	5.5～till the end

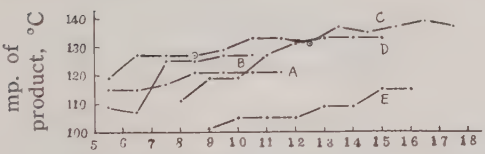


Fig. 2. Melting point of chlorination product of polymerized shark oil.

In 16cc of trichloroethylene 4g of oil was dissolved and chlorinated.

A, B, C····Oils A, B and C in Table 5 were used. BPO was added by 0.4g each.

⊙····At this time di-*t*-butylperoxide was added by 1cc in case of C.

D····Oil C was chlorinated di-*t*-Butylperoxide being added by 3cc instead of BPO.

E····As a test comparative with D, intact shark oil (not polymerized) was chlorinated.

Fig. 1 の実験から見て，高融点の生成物を得るためには塩素化反応の温度ははじめ低くし，つねに反応液の沸点以下に保ちながら次第に高くして行なかねばならない。

3. 重合油を用いた場合

前項のように反応液に酢酸ビニールを添加することによつて反応温度を 130°C に上昇し得たが，添加量が大きい割合には生成物の融点が上がらないから，その添加をやめ，しかも塩素化温度を 100°C 以上にしたいので，サメ油を重合して試用して見た。Table 5 に示す重合油 4g を BPO 0.4g 添加下にトリクロルエチレン 16cc 中に溶解し，従前通り塩素化しながら，途中反応液の一部を取り出し，前項に準じて薄膜状として融点を測定した。ただし，反応液を加熱蒸発する物の温度は 110°C ではなく 130°C にした。塩素化反応の温度は Fig. 1, No. 45 にならない，Table 6 のようにした。測定結果は Fig. 2 の通りである（はじめの方は融点が低いので省略)。図の A は固体重合油の場合であり，砕いて使用したが，トリクロルエチレンに大部分溶けなかつたし，塩素化終了後も一部不溶のまま残つたので溶解部分について融点を測定したのであるが，塩素化 8 時間半にして 121°C に達しそれ以上昇らない。C の場合は完全に溶け，生成物の融点は A, B より短時間でしかも高くなる (127°C)。このように重合油を塩素化すれば高融点の生成物を得られるが，重合し適ぎたものはトリクロルエチレンに対し不溶性となる (Table 5, B 油も一部不溶) から，重合の程度は可溶性をそこなわない限度にすべきである。塩素化反応中もはや融点が上昇しなくなつた時 (Fig. 2, C の 8.5 時間後または 12.5 時間後) に d·t·BP (di-t-ブチルパーオキサイド) を加えて塩素化を続ければ，融点はある程度上昇する。ゆえに重合油 C 4g に BPO を加えることなく，d·t·BP をはじめから 3cc 加え，トリクロルエチレン 16cc を溶剤として塩素化して見たところ，生成物の融点は Fig. 2, D のようになつた。図の E は D における重合油 C のかわり重合しない元のサメ油を使用し，その他は D と全く同じに塩素化したもので，重合油の方が高融点の生成物をつくることがわかる。さて，図の D と C を比較する

と，最終的に得られる生成物の融点は C の方が高く，C において d·t·BP の添加時間は図よりわかるようにもつと早めることができるから，塩素化所要時間も短縮することが可能である。よつて塩素化物の融点を上げるには塩素化の初期に BPO を加え，90°C における塩素化を終り，130°C における塩素化に移つてから d·t·BP を加へるべきである。対照試験として BPO, d·t·BPO を使用せず重合油 C をトリクロルエチレンに溶解して塩素化したが，生成物の融点は 98～100°C であつた。

4. *o*–ジクロルベンゼンを溶剤とした場合

2. のところで述べたようにトリクロルエチレンを溶剤とすれば昇華性の副生成物を生じ，生成量も相当多いので溶剤として適当でない。重合油 4g に d·t·BP (日本油脂 KK 製，パーブチル－D，以下同じ) 1cc, 溶剤 (Table 7 参照) 16cc を加えたものを塩素化し(温度は Table 6 を参考にした)，生成物の融点を求めれば Table 7 の通りで，ベンゼンやそのメチル置換体を溶剤にすれば，反応温度は表のように最終的にはかなり高いにもかかわらず高融点の生成物は得られない。つぎに *o*–ジクロルベンゼン (bp. 179°C) を溶剤とした場合は Table 8 のように，Table 7 より高い融点の生成物が得られる。この場合も非重合油より重合油の方が高融点の生成物を与える。

なお Table 7, 8 の実験に使用した重合油は Table 5 のように封管内で重合したものではなく，サメ油 80g に d·t·BP 20cc 加え，かくはん器，冷却器，油度計をつけて，136～138°C 20 分加熱し，つぎに 148～150°C で 40 分加熱して得たきわめて粘稠な橙色の重合油である。重合中，激しくかくはんしないと均一に重合しない。

Table 7. Chlorination of polymerized shark oil carried out in various solvents.

Solvent	mp. of product	Temperature at the end of chlorination
Carbontetrachloride	88～90°C	110°C
Benzene	94～96	150
Toluene	〃	〃
Xylene	70>*	180

Reaction temperature was specified referring to Table 6.
* Chlorinations at temperatures higher than 130°C did not yield solid products.

Table 8. Values of mp. of chlorination products of shark oil, polymerized or not polymerized.

	Reaction mixture			mp. of product
	Shark oil	Solvent	Di-*t*-butyl peroxide	
Poly-merized	4.0g	16cc	0cc	114～116°C
	〃	〃	3	〃
	〃	〃	4	116～118
	〃	〃	5	118～120
Intact	4.0g	16cc	0cc	100～102°C
	〃	〃	4	108～110

o–Dichlorobenzene was used as solvent.

Table 8 の重合油使用の実験において，d·t·BP 添加の場合と使わぬ場合で，その生成物の融点の差は僅かに 4°C であり，かつ融点は最高の場合も 120°C に達しない。トリクロルエチレンを使用した Fig. 2, D の最高融点が 133°C であるのに対し，この溶剤を使う場合は d·t·BP を添加しても生成物の融点は余り上昇しない。その上 d·t·BP を加えると，塩素化反応中冷却器から水滴のようなものが滴下して反応液を混濁せしめる。これを避けるため強燐酸[1]を添加しその効果を認めた。強燐酸は 90°C における塩素化が終り，反応温度を 130°C に上げた後に加えるので，強燐酸はこの時加えればよく，塩素化反応の最初から加えておいた場合には，重合油が犯され，かつ融点 100°C 以下の生成物しか得られなかつた。しかし，*o*–ジクロルベンゼンを溶剤とすればトリクロルエチレンを溶剤とした時のような副生成物による煩雑さが起らないし，強燐酸を使えば塩素化物の融点が上昇することを発見した。その上 d·t·BP による重合油は重合し過ぎると，Table 5 の A, B 油のように，トリクロルエチレンに一部溶けなくなるが，*o*–ジクロルベンゼンはトリクロルエチレンよりこの点良好な溶媒であることがわかつたので，塩素化反応に使う溶剤として *o*–ジクロベンゼンを採用することにした。

サメ油を室温でほとんど流動しなくなる程度まで重合 (d·t·BP による重合) し，その 4g および BPO 0.4g を *o*–ジクロルベンゼン 16cc に溶解して塩素化し，3 時間後，90°C の塩素化が終つた時強燐酸を加

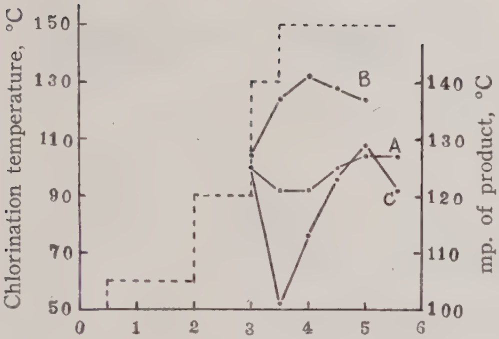


Fig. 3. Effect of strong phosphoric acid and di-*t*-butylperoxide on mp. of chlorination product of polymerized shark oil.

--- Chlorination temperature.
—— mp. of product.
A····Sample oil 4g + BPO 0.4g + *o*-dichlorobenzene 16cc.
B····Strong phosphoric acid was added by 4g to the reaction mixture A.
C····Strong phosphoric acid (4g) and di-*t*-butylperoxide (1cc) was added to the reaction mixture A.
In the cases of B and C, phosphoric acid or di-*t*-butylpepoxide was added at the end of chlorination at 90°C.

Table 9. Values of mp. of chlorination products of polymerized shark oil as variable with the kind of chlorobenzene used as solvent.

Solvent	mp. of product
monochlorobenzene	132～134°C
o-dichlorobenzene	140～142
1, 2, 4 trichlorobenzene	134～136

Chlorination was carried out as in the case of Fig. 3, B.

えこさらに塩素化を続行した。温度，時間，生成物の融点を Fig. 3 に示す。図のCのように d·t·BP を加えると一時随分融点が低下する。しかし強燐酸のみ添加すれば，Bのように最高 141°C の融点を持つ生成物が得られる。強燐酸の使用量を検討して見ると，重合油4gに対し2～4gが適当であり，これより多くても少くても生成物の融点は 140°C に達しなかつた。塩素化後強燐酸は器低に沈み，この溶剤には溶けないので，反応液との分離は容易である。図のBの4時間後の反応液から，溶剤処理[5]によつて得た生成物は淡黄色粉末で塩素含有率65.3%であつた。収率は原料油に対し 243%.

また，ベンゼンの 1～3 塩素置換体は上記重合油の良い溶剤であるから，これを溶剤とした場合の塩素化物の融点を比較すれば Table 9 の通り，*o*-ジクロルベンゼンを溶剤とした時の塩素化物が最高の融点 (140～142°C) を示したので，やはりこの溶剤が適しているといえる。

要　　約

サメ油を四塩化炭素溶液として塩素化する時，過酸化ベンゾイルを添加すれば塩素化物の融点は上昇する。四塩化炭素のかわりにトリクロルエチレンを溶剤とすれば，塩素化物の融点はさらに高くなり，かつ d·t·BP（過酸化ジ第三ブチル）を併用すれば一層高くなるが，この溶剤は副生成物を多くつくるので適当でない。d·t·BP によつて重合したサメ油を *o*-ジクロルベンゼンに溶解し，温度を適当に選び，かつ強燐酸を併用して塩素化を行なえば，融点 140～142°C の塩素化物を得る。淡黄色粉末，塩素含有率 65.3%.

終りに，終始御指導を仰いだ東京工業大学舟木教授に深く感謝致します。

文　　献

1) 鈴木康策：本誌，**24**，515 (1958).
2) ———：——，—，45 (1958).
3) 稲本直樹：有機合成，**16**，454 (1958).
4) 木羽敏泰：化学と工業，**11**，730 (1958).
5) 鈴木康策：本誌，**24**，381 (1958).

海水中のクロルテトラサイクリンの安定性および静菌効果

米　康夫・藤野清也・富山哲夫

(1960 年 4 月 4 日受理)

STABILITY AND BACTERIOSTATIC EFFECT OF CHLORTETRACYCLINE IN SEA WATER

Yasuo YONE, Seiya FUZINO and Tetuo TOMIYAMA*

It has been well known fact that chlortetracycline (CTC) is very stable in acid solution but not in alkaline solution. The pH of sea water is near 8.0 or more, but it is obliged to use sea water for storage of fish aboard. The aims of this paper are to investigate the stability and the bacteriostatic effect of CTC in sea water. The results can be summarized as follows:

1. CTC was stable in sea water compared with CTC in phosphate buffer solution with pH 8.0 (Fig. 1).
2. The antibiotic was rapidly destroyed in effluent of sea water through a column of cation exchange resin (*H*), but very stable in percolate expelled with 2N hydrochloric acid (Fig. 2).
3. CTC was stable in magnesium sulphate and calcium acetate solutions (Table 1).
4. Bacteriostatic effect of CTC in magnesium sulphate solution containing Mg^{++} at equal level to the cation in sea water was equal to that of CTC in sea water (Table 3).
5. Bacteriostatic and preservative effect of CTC in sea water were recovered by addition of citric acid (Table 2 and Figs. 3, 4).
6. CTC was very stable in sea water containing citric acid (Table 4).

水産物の鮮度保持に対するクロルテトラサイクリン (CTC) の効果，組織への滲透および加熱加工による破壊等については，多くの人が研究している。しかし CTC の安定性についての研究はきわめて少くない。

CTC が酸性では安定であるが，中性からアルカリ性では不安定であることは良く知られているが，著者等は pH 8 以上の海水中で CTC が比較的に安定であることをしばしば認めた。因つて本研究ではこの事実を実験的に確かめ，さらにその原因を追究すると同時に，海水中の CTC の静菌効果並びにキレート剤による CTC の静菌効果の回復について検討した。その結果，海水中で CTC は安定であり，その原因が海水中の Mg, Ca 等の金属と CTC とのキレートであること，またクエン酸を使用することによつて海水中の CTC の静菌効果を回復することができることを明らかにした。

実験方法

1. CTC: 医薬用クロルテトラサイクリン塩酸塩の純末を使用直前に溶解して用いた。

2. 海水: 供試した海水は福岡県粕屋郡新宮の突堤で採取した河川水の混入しない外洋水で，水重 1.03, pH 8.13 であつた。

3. 安定性試験: 10 ppm の CTC 溶液 50 cc を密栓した 100 cc の三角フラスコに入れ，25°C のフラン器内に放置した。一定時間毎に試料を採取し CTC 量を測定した。試料の採取には CTC が海水中の金属と不溶性のキレートを形成し，ガラス壁に沈着する可能性があるので，マグネティック・スターラーで充分攪

* 九州大学水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).
(印刷費負担)

拌しながらピペットで採取した。

4. 供試細菌: 福岡県宗像郡津屋崎沿岸で底刺網を用いて漁獲したメバル，アイナメおよびカレイを，漁獲後直ちに滅菌シャーレに移し，7°C で 3 日間放置した後表面のネトより分離した菌の内，2 種を採取後直ちに供試した。これらは同定するまで仮りに No. 13 および 14 と名付けた。この 2 種の菌を海水にペプトンを 0.5%，肉エキスを 0.2% 溶解した液体培地 (pH 7.6) で充分に繁殖させ，供試直前に滅菌した 3% 食塩水に懸濁して用いた。

5. 最小阻止濃度測定用基礎培地: 基礎培地にはペプトン 10g，肉エキス 10g を海水または 3% 食塩水 1l に溶解したものを用いた。

6. 最小生育阻止濃度 (MIC) の測定: CTC 濃度が 0, 1, 2, 3, 5, 10 および 25 ppm になるように，CTC の食塩（海水）溶液 1cc を加えた各種液体培地（基礎培地に試料を添加したもの）10cc に，先に準備した菌懸濁液 1cc を加え，25°C のフラン器で約 15 時間培養し，その濁度を日立光電光度計 EPO-B 型で測定し，濁度が急激に減少する CTC 濃度を MIC とした。

7. 揮発性還元物質 (VRS): サバ肉の鮮度測定に VRS を用いたが，その定量は富山・大山・池浦の方法[1] によつた。

8. CTC 定量: 海水および培地中の CTC の定量は，富山・小林・米の簡易 cylinder plate 法[2] により行つた。

実験結果および考察

(1) 海水中の CTC の安定性

海水，蒸溜水，pH 5.6 および pH 8 の $\frac{1}{100}$ M 燐酸緩衝液に溶解した約 10 ppm の CTC 溶液を 25°C で放置し，CTC 量の変化をみた。その結果は Fig. 1 に示すように，蒸溜水および pH 5.6 の燐酸緩衝液中の CTC はきわめて安定で，48 時間後のその破壊は 19 および 15% であつたのに対し，海水と同じ pH 8 にした燐酸緩衝液中の CTC の破壊は非常に早く，48 時間後にはほとんど完全に破壊された。一方海水中の CTC は 48 時間後に 40% が破壊されたにすぎず，海水中の CTC は比較的に安定であつた。

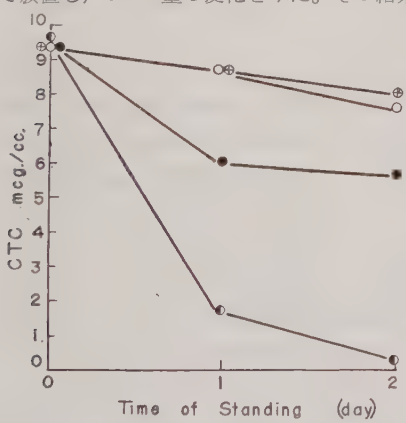


Fig. 1. Change of CTC content in sea water with time of standing at 25°C. ○ in distilled water (pH 5.6), ● in sea water (pH 8.0), ⊕ in pH 5.6 and ◐ pH 8.0 phosphate buffer. CTC content was measured by practical cylinder plate assay method[2].

海水中で CTC が安定である理由に，CTC と海水中の金属とのキレートが考えられるので，つぎにイオン交換樹脂で処理した海水に CTC を溶解した場合の安定性について検討してみた。まず強酸性カチオン交換樹脂 H 型 (Diaion BK) を通した海水を定性分析したところ，流出液中には Cl^- および SO_4^{--} が検出されたが，Mg^{++}, Ca^{++} は認められなかつた。またカチオン交換樹脂吸着物を 2n 塩酸で浸出し，その浸出液を減圧濃縮してできるだけ塩酸を除いた後，交換樹脂に通す前の海水の容積に定容した。その浸出液中には Ca^{++} および Mg^{++} が検出された。因つて流出液と浸出液を苛性ソーダで pH 8 に調整し，これに CTC を溶解して 25°C で 2 日間放置した。放置中における CTC 量の減少を燐酸緩衝液 (pH 8.0) および海水に溶解した CTC の減少と比較したところ，Fig. 2 に示すように，流出液中の CTC はきわめて早く減少し，燐酸緩衝液 (pH 8) 中の CTC の減少とほとんど差がなかつた。一方浸出液中の CTC は非常に安定で，海水中の CTC の減少と差がなかつた。

以上の実験により海水中で CTC の破壊を防ぐ物質は，海水中のカチオンであることが明らかとなつたの

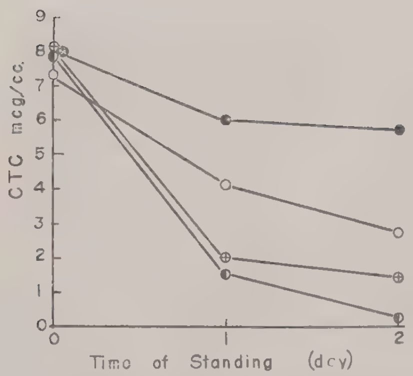


Fig. 2. Change of CTC content in effluent and percorate of sea water treated with cation exchange resine (Diaion BK) with time of standing at 25°C. ○ in sea water, ◐ in phosphate buffer (pH 8.0), ⊕ in effluent, ● in percorate.

Table 1. Change of CTC content in a 3% NaCl solution containing Mg^{++} and Ca^{++} at equal level to cations in sea water.

CTC solution	pH	CTC mcg./cc Initial	after 1 day	after 2 day
$\frac{M}{100}$ phosphate buffer	8.0	9.1	0.6	0.1
sea water	8.1	9.4	5.8	3.2
Ca acetate	8.2	9.1	5.4	4.3
$MgSO_4$	8.2	9.1	5.3	4.7

で，つぎに海水中に比較的多量に含まれ，CTC とキレート化合物をつくる Mg および Ca の水溶液中における CTC の安定性について検討してみた。すなわち海水中と同じ濃度の Mg^{++} および Ca^{++} を含有するように，硫酸マグネシウム 13g および酢酸カルシウム 1.8g を 1L の 3％食塩水に溶解し，これに 10ppm の CTC を添加した。なお各溶液の pH を苛性ソーダおよび水酸化カルシウム溶液で 8.2 に調整した。これらの溶液を 25°C で 2 日間放置し，毎日の CTC の減少を測定した結果は，Table 1 に示すようで，硫酸マグネシウムおよび酢酸カルシウム溶液中の CTC の減少は，海水溶液中の CTC の減少とほとんど差がなく，pH 8 の燐酸緩衝液中の CTC に比べて非常に安定であつた。このような結果から海水中の CTC が安定な理由として，海水中の Mg^{++}, Ca^{++} と CTC とのキレートが考えられる。

（2） 海水中の CTC の静菌効果

(1) 項の実験で著者等は海水中の CTC がきわめて安定であり，その原因は CTC が海水中の Ca, Mg 等とキレート化合物をつくるためであることを明らかにした。一方 CTC の静菌作用は細菌の発育に必要な金属と CTC がキレートして細菌がその金属を利用できなくするためであるならば，海水に溶解した CTC の静菌効果は低下するであろう。したがつてその効果を回復するためには何等かの方法で，そのキレートをきれば良い。本研究はこのような考えから著者等はつぎに海水中の CTC ならびにクエン酸を用いた場合の CTC の静菌効果について検討した。すなわち実験方法の部に記載した方法で，海水基礎培地，クエン酸を添加した海水培地における 2 種の海洋細菌の MIC を測定した。2 回の実験で得た結果を示した Table 2 から明らかなように，クエン酸添加培地における MIC はクエン酸量 25ppm では，海水基礎培地のそれと差がないが，クエン酸を 225ppm 添加するとその MIC は低くなつた。すなわち，いずれの菌でも，海水培地およびクエン酸 25ppm 培地での MIC は 5～10mcg/cc であつたが，クエン酸 225ppm 添加培地での MIC は 3～5mcg/cc であつた。この MIC の減少はクエン酸添加による培地の pH の低下によるのではないかとも考えられるが，この考えは海水培地の pH を塩酸で下げてクエン酸 225ppm 培地の pH と同じにした場合の MIC が，海水培地の MIC とほとんど変らなかつたことから否定された。また各培地の pH が異るために，培養中における培地中の CTC の破壊が各培地により異り，そのために MIC に差が生じたのではないかとも考えられるが，培養後の各培地中の CTC 量を定量したところ，いずれの培地でも 15 時間培養後の培地中の CTC 量は，培養前に添加した量とほとんど変つていなかつた。したがつて CTC は海水中の Ca, Mg 等の金属とキレート化合物をつくり，安定となるが，その効果は低下する。そして，クエン酸の添加によつて，その効果は回復すると考えても差支えないであろう。さらにこの考えの正しいことを実証するために，海水中と同じ濃度の Ca および Mg を添加した 3％食塩水培地に細菌を培養して，その菌の MIC を，Ca, Mg を添加しない 3％食塩水基礎培地における MIC と比較した。その結果は Table

Table 2. Bacteriostatic effect of CTC in sea water with or without citric acid.

Bacteria*	CTC-sea water Addition	pH	Growth of bacteria (turbidity** %) CTC content in sea water (ppm) 0	1	2	3	5	10	25	Minimal inhibitory concentration (MIC)	Growth of bacteria (turbidity %) CTC content in sea water (ppm) 0	1	2	3	5	10	25	MIC
No. 13	none	7.8	50	44	37	—	34	7	4	5～10	100	100	100	100	100	90	25	25<
	HCl	5.7									100	100	100	100	100	100	0	10～25
	citric acid 25 ppm	6.0	60	55	60	60	41	9	3	5～10								
	citric acid 225 ppm	5.7	29	40	22	21	10	3	3	3～5	100	100	100	100	100	29	8	5～10
No. 14	none	7.8	21	21	19	19	17	7	7	5～10	70	58	28	53	11	5	0	5～10
	HCl	5.7									26	22	22	17	12	6	0	5～10
	citric acid 25 ppm	6.0	21	21	19	18	15	7	9	5～10								
	citric acid 225 ppm	5.7	18	17	17	14	6	5	5	3～5	25	29	24	13	5	0	0	3～5

* are marine bacteria isolated from the surface of flat fish spoiled in an aseptic case, and those have not been identified. Bacteria were grew in sea water containing 1% pepton and 1% beef extract for 15 hrs at 25°C. ** measured with photo-electric photometer.

3 に示すように 0.4 g/l の Ca^{++} および 1.3 g/l の Mg^{++} を含むように，酢酸カルシウムあるいは硫酸マグネシウムを添加した 3% 食塩水培地での MIC はいずれの菌も無添加の食塩水培地のそれより高いことを示している。特に Mg 添加培地での MIC は，海水培地でのそれとほとんど同じであつた。このことは海水中の Ca, Mg 等は CTC とキレート化合物をつくり，CTC の静菌効果を低下する。特に Mg のその作用は最も大きいことを示している。つぎに CTC 海水溶液で魚を処理した場合に，海水中の CTC の鮮度保持効果はクエン酸の使用によつて回復するか？ この点を検討するために 25, 50 ppm の CTC 海水溶液および 10, 40 および 90 ppm のクエン酸を添加した同濃度の CTC 海水溶液 2 l に，それぞれ市販の 5 尾のサバを浸漬し，2～5°C の冷蔵庫に 5 日間放置して魚肉中の揮発性還元物質量 (VRS) を測定した。その結果は Fig. 3 および 4 に示すように，いずれの CTC 濃度でも，クエン酸の添加量が増すにしたがつてその鮮度保持効果が増大した。

Table 3. Bacteriostatic effect of CTC in a 3% NaCl solution containing Ca^{++} or Mg^{++} at equal level to that in sea water.

Bacteria	CTC solution	pH	Growth of bacteria (turbidity %) CTC content in solution (ppm) 0	1	2	3	5	10	25	Minimal inhibitory concentration (MIC)
No. 13	NaCl	6.0	32	5	0	0	0	0	0	0～1
	sea water	6.0	100	100	100	100	100	90	100	25<
	Ca acetate*	6.1	100	100	83	4	2	3	1	2～3
	$MgSO_4$*	6.0	65	73	52	50	45	41	9	10～25
No. 14	NaCl	6.0	12	2	0	0	0	0	0	0～1
	sea water	6.0	70	58	28	53	11	5	0	5～10
	Ca acetate*	6.1	21	9	3	2	0	0	1	1～2
	$MgSO_4$*	6.0	22	25	20	16	16	6	5	5～10

* Ca^{++} 0.4 g/l, Mg^{++} 1.3 g/l.

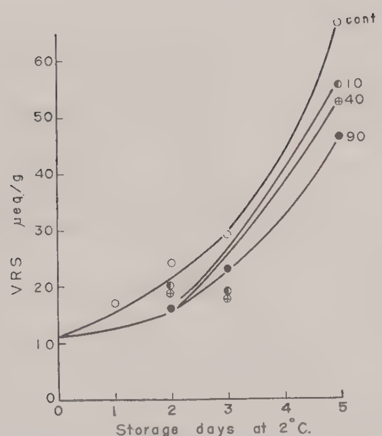


Fig. 3. Change of volatile reducing substances (VRS) in flesh of mackeral dipped in 25 ppm CTC–sea water with or without citric acid.
○ control (without), ◐ with 10 ppm ⊕ with 40ppm, and ● with 90 ppm citric acid.
VRS was measured by TOMIYAMA et al's method[1].

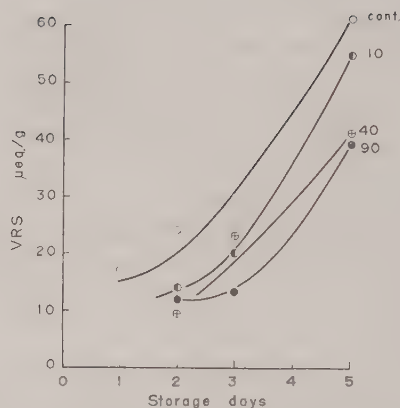


Fig. 4. Change of VRS in flesh of mackerel dipped in 50 ppm CTC-sea water with or without citric acid.
○, ◐, ⊕, ● and temp.: see Fig. 3.

（3） クエン酸海水溶液中の CTC の安定性

(2) 項の実験で海水中の CTC の鮮度保持効果は，クエン酸を使用することによつて回復することを確認したが，一方 (1) 項の実験では，海水中で，CTC は比較的に安定であり，その安定な理由は海水中の Ca, Mg 等の金属とキレート化合物をつくるためであることを認めた。したがつてクエン酸を使用することは，海水中の CTC を不安定にするのでないかと考えられる。因つて本研究ではクエン酸を添加した海水中の CTC の安定性について検討した。すなわち 10, 40 および 90 ppm のクエン酸海水溶液に 10, 25 および 50 ppmの CTC を溶解し，20°C で放置した。CTC 量の変化を毎日測定した結果を Table 4 に示した。これらの表から明らかなように，いずれの場合もクエン酸海水溶液中の CTC は安定で，海水中の CTC とほとんど変らない安定性を示した。

以上の実験結果から魚の鮮度保持に CTC の海水溶液を使用する場合には，CTC の 4 倍量以上のクエン酸を使用することが望ましいといえる。

Table 4. Change of CTC content in sea water with or without citric acid with time of standing at 25°C.

CTC–sea water: Amt. of citric acid added (ppm)		pH	10 ppm Initial	10 ppm after 1 day	10 ppm after 2 day	25 ppm Initial	25 ppm after 1 day	25 ppm after 2 day	50 ppm Initial	50 ppm after 1 day	50 ppm after 2 day
0	sea water	8.0	10.1	10.1	8.7	26.6	26.6	21.3	52.3	42.7	44.2
0	phosphate buffer	8.0	4.4	2.7	1.5	14.6	21.3	9.2	61.0	47.9	20.5
10	sea water	7.7	10.2	8.0	7.3	26.6	34.6	25.3	42.7	47.9	40.9
40	sea water	6.4	10.2	9.4	8.7	28.0	35.9	17.3	52.3	47.9	43.6
90	sea water	6.1	9.4	8.7	8.7	33.3	28.0	21.3	52.3	47.9	52.3

Concentration of chlortetracycline (mcg/cc)

結　　論

海水中の CTC の安定性および静菌効果について検討した結果はつぎの通りである。

1. CTC は海水中で比較的に安定である。

2. 海水中の CTC が安定な理由として，海水中の Mg^{++}, Ca^{++} 等のような金属と CTC とのキレートを考え，Mg^{++} が主な安定化物質であることを証明した。

3. CTC の静菌効果は Mg^{++} および Ca^{++} の存在によつて低下する。特に Mg^{++} の影響が大きい。

4. 海水中の CTC の静菌および鮮度保持効果はクエン酸の添加によつて回復する。

5. クエン酸を含有する海水中で CTC は安定である。

文　　献

1) 富山哲夫・大山重信・池浦一也：本誌，**26**, 33 (1960).
2) 富山哲夫・小林邦男・米　康夫：本誌，**24**, 937 (1959).

食品の鮮度測定法に関する研究—XV.

通気法による揮発性還元物質 (VRS) の改良定量法

富山哲夫・大山重信・藤野清也

(1959 年 12 月 5 日受理)

STUDIES ON THE METHOD FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—XV. AN IMPROVED AERATION METHOD FOR DETERMINATION OF VRS.

Tetsuo TOMIYAMA, Shigenobu ŌYAMA and Seiya FUJINO*

The present study deals with the improvement of the FARBER method[2] on employing deproteinized extract for the aeration in place of the pressed muscle juice and on aeration at pH 9.3 rather than unadjusted pH of sample tissue.

The VRS value of mackerel and albacore obtained by the present method amounts approximately one-half as much as that by the TOMIYAMA et al's steam distillation method[3]. This infers that VRS determined by the aeration method involves volatile substances possessing higher volatility.

It was found that the volatility of VRS varied with the freshness of sample flesh and that trimethylamine could hardly be removed at pH 7.0~7.7 whereas nearly one-half as much removed at pH 9.3. It was also noted that the FARBER method was capable of determining rather a small fraction (29%) of the neutral substances as compared with the TOMIYAMA et al method.

LANG 氏等[1] および FARBER 氏等[2] は獣魚肉およびその缶詰製品の VRS 含量を通気により定量する方法について報告している。この方法においては肉の圧搾汁を定量に用いている。缶詰の肉の場合にはこの試料の調製は容易であるが，生肉の場合には 10cc の圧搾汁を調製するのはきわめて困難である。また圧搾汁を用いるために，通気中における試料の発泡が甚だしく，したがつて特別の通気装置が必要となる。

他方，富山等[3),4)] は FARBER 法で定量している VRS が主として中性物質であろうと推察したが，VRS の分子構造や分子の大きさで通気駆逐速度も異なるであろうし，また塩基性物質も多少は含まれるであろうから，VRS の各分画区を用いて室温における酸化速度および通気による駆逐速度を検討した。

FARBER 法には以上のような欠点あるいは検討を要する点があるので，本報ではこれらの欠点を除き，簡易な装置で定量する方法について研究し，その結果に基づいて一改良法を提出した。またこの改良法による VRS 値と富山等の蒸留法[3] による値との比較をも行つた。

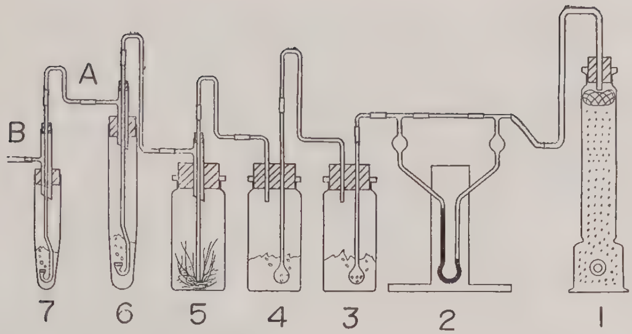
定 量 方 法

1. 定 量 装 置

Fig. 1 に示すような装置を用いる。図において，1 は粒状活性炭をつめたガス吸収塔 (研究室の空気が有機物で汚染されていなければ，これは不必要である)，2 はU字管に流動パラフィンをいれた流速計，3 および 4 は 10% H_2SO_4 に $KMnO_4$ を 10% にとかじた溶液および 10% NaOH に $KMnO_4$ を 10% にとかした溶液をそれぞれいれた洗気瓶，5 は $KMnO_4$ の微小滴を捕集するための洗気瓶，6 はガラス散気管により試料抽出液 25cc を通気する容器，7 は 0.025 N $KMnO_4$ (1 N NaOH を含む) の 20cc を入れて，VRS を捕捉する容器である。

---

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ.. Fukuoka).



1: Air cleaner with activated charcoal, 2: Flow meter, 3: Air washer containing 10% $KMnO_4$ in 10% H_2SO_4, 4: Air washer containing 10% $KMnO_4$ in 10% NaOH, 5: Mist holder with glass wool, 6: Aeration tube of sample extract, 7: Tube for oxidation of VRS with 0.025 N $KMnO_4$ in 1 N NaOH.

Fig. 1. Aeration set-up for VRS determination.

2. 試　薬

(1) 1 N NaOH を含む 0.025 N $KMnO_4$, (2) 0.2% Na_2CO_3 および 0.1% $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ を含む約 0.055 N $Na_2S_2O_3$, (3) 6 N H_2SO_4, (4) 20% KI, (5) 0.025 N KHI_2O_6, (6) 0.2% 可溶性澱粉液, (7) シリコン消泡剤（食品用 "東芝シリコン TS 982"), (8) 12% NaOH, (9) 除蛋白抽出剤[5]: 600 g の $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ と 20 cc の 6 N H_2SO_4 を水で 1 l とする。(10) 試料抽出液の稀釈剤: 除蛋白抽出剤の 7 部に水 3 部を混和する。

3. 定 量 方 法

細砕した試料肉 10 g をブレンダーあるいは乳鉢に採り，これに 20 cc の水を加え混合，つぎに 70 cc の除蛋白剤を混和してから乾燥沪紙で沪過する。この沪液 25 cc を Fig. 1 に示した容器 6 にとり，12% NaOH の 2 cc および消泡剤の 1 cc を加える。別に容器 7 に 20 cc の 0.025 N $KMnO_4$ を入れる。Fig. 1 に示すようにそれぞれ連結した後にあらかじめ補正した流速計を見ながらピンチコックを調製して通気量を 1.3 l/min. に調節し，40 分間通気する。

通気が終れば，Fig. 1 の A の部分をはずし，つぎに B の部分をはずし，容器 7 のみをとりはずし，煮沸している水中に 10 分間保つ。加熱が終れば 3 cc の 20% KI を加え流水中で充分に冷却する。つぎに 6N H_2SO_4 5 cc を加えて沃度を遊離させ，直ちに精密に 10 cc の約 0.055 N $Na_2S_2O_3$ を加えて遊離した沃度を除去し，約 0.5 cc の澱粉液を指示薬として過剰に存在する $Na_2S_2O_3$ を 0.025 N KHI_2O_6 により青紫色が現われるまで滴定する。他方，試料の代りに除蛋白剤 7 と水 3 との混合液，すなわち稀釈剤の 25 cc を用いて上記の定量操作を行つて盲検値を求める。VRS 値は次式により計算する。

$$\text{VRS (microequivalent, } \mu\text{e)} = \frac{(T - Bl) \times 0.025 \times 1000}{S}$$

T = titer of 0.025 N KHI_2O_6 for VRS + Blank,

Bl = titer of 0.025 N KHI_2O_6 for blank,

S = weight of sample tissue in a 25-cc aliquot.

ただし，$T - Bl$ の値が 3 cc 以上であつた時は，試料抽出液を稀釈液で適当に稀釈した後，再び定量し，VRS 値を求める。

研　究　結　果

1. サバの中性および塩基性 VRS の室温における酸化速度

サバ肉の除蛋白抽出液をアルカリ性で水蒸気蒸留し，留出液から Amberlite IRC-50 により塩基性物質を除いてえた中性物質が 27°C において 0.02 N $KMnO_4$ により酸化される速度を検討した。その結果は Table 1

に示すように，酸化時間が 20 分から 180 分の範囲では 180 分の値に対し 40 分ではすでに 95% に達したが，煮沸水中で 10 分間加熱酸化した値に対しては 78% にしか達しなかつた。同様に塩基性 VRS を室温で酸化すると，120 分間酸化した値に対し 40 分間酸化した場合は 94% に達したが，煮沸水中で 10 分間加熱酸化した値に対しては 76% にしか過ぎなかつた。

2. サバの中性および塩基性 VRS を通気した場合の駆逐速度

サバ肉の中性物質溶液を pH 7.0 に調製した後，室温で 1.3l/min. の通気をした場合の中性物質の駆逐速度は Table 2 に示したように，160 分の値に対して 40 分では 57% に過ぎなかつた。また加熱酸化した時の値に対して 40 分通気のものは 29% にしか達しなかつた。これに対して塩基性物質を pH 6.8～6.9 で通気したところ，40 分通気した時の値は 120 分通気の値の 94% を示したが，加熱酸化した時の値の 18% にしか過ぎなかつた。

他方，サバ肉の塩基性物質および中性物質の溶液にその 2 倍容の除蛋白用 $MgSO_4$ 液を混和したものを試料とし，消泡剤および NaOH 液を添加した後 1.3l/min. の通気で VRS を駆逐したところ，富山法値に対し中性物質では 41%，塩基性物質では 48% が回収された。すなわち $MgSO_4$ を含み，しかもアルカリ性で通気した場合の方が $MgSO_4$ を含まず中性で通気した場合よりも回収率が高いといえる。

Table 1. Rate of oxidation of neutral and basic VRS with an alkaline 0.02 N $KMnO_4$ at 27°C.

Time of standing (min.)	Neutral VRS: titer of 0.025 N KHI_2O_6 (cc)	Neutral VRS: % of VRS by heat-oxidation*	Basic VRS: titer of 0.025 N KHI_2O_6 (cc)	Basic VRS: % of VRS by heat-oxidation**
20	1.17	70	0.97	66
40	1.29	78	1.12	76
80	1.30	78	1.14	78
120	1.31	79	1.19	81
180	1.36	82		

* Titer for VRS obtained by a 10-min. oxidation in boiling water bath was 1.66 cc.
** Titer for VRS obtained by a 10-min. oxidation in boiling water bath was 1.47 cc.

Table 2. Rate of removal of neutral and basic VRS at pH 6.9～7.1* with a rate of aeration of 1.3l/min.

Time of aeration (min.)	Neutral VRS: titer§ of 0.025 N KHI_2O_6 (cc)	Neutral VRS: % of VRS† by heat-oxidation	Basic VRS: titer§§ of 0.025 N KHI_2O_6 (cc)	Basic VRS: % of VRS†† by heat-oxidation
20	0.45	16	0.98	13
40	0.82	29	1.33	18
80	1.29	45	1.39	18
120	1.40	49	1.41	19
160	1.44	50		

* pH value was kept invariable during the aeration by adding 1 cc of 1 M phosphate buffer of pH 6.82 to 25-cc aliquot.
§ determined on a 10-cc aliquot of the neutral fraction.
† VRS by a 10-min. heating in boiling water bath was 1.14 cc per 4 cc of sample.
§§ determined on a 10-cc aliquot containing 4 cc of the basic fraction.
†† VRS by a 10-min. heating in boiling water bath was 1.51 cc per 0.8 cc of the basic fraction.

3. 除蛋白抽出液を中性あるいはアルカリ性で通気した場合の駆逐率

鮮度の異なるビンチョウマグロの肉の除蛋白沪液を NaOH で pH 6.5～7.0 に調整したものを試料とし，

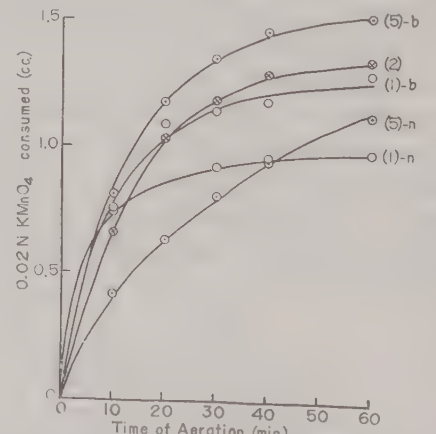


Fig. 2. Rate of removal of VRS with aeration of albacore flesh extract at basic and neutral reactions.

Samples (1) and (2) are fresh flesh and sample (5) unpassable flesh. (1): Original extract without dilution, (2): two times diluted, (5): five times diluted, suffix n: neutral reaction, and suffix b: basic reaction.

Table 3. Rate of oxidation of TMA* with an alkaline 0.02 N $KMnO_4$ at 26°C and rate of removal of TMN by aeration.

Time of standing (min.)	TJiter† cc	%§	Time of aeration (min.)	pH 7.0†† titer† cc	%§	pH 7.7†† titer† cc	%§	pH 9.3** titer† cc	%§
20	1.30	64	20	0.02	1	0.10	5	0.73	36
40	1.52	75	40	0.04	2	0.18	9	0.93	46
80	1.66	82	60	0.07	3	0.29	14	1.11	55
120	1.72	85						1.14	56

* a 0.3-cc aliquot of trimethylamine HCl solution containing 1.2 mg/cc was added to a 0.02 N $KMnO_4$ solution.
† titer of 0.025 N KHI_2O_6.
§ expressed as per cent of value obtained by a 5-min. boil-oxidation (2.03 cc).
†† pH change after an 80-min. aeration was as small as 0.07 to 0.12.
** pH value was decreased 0.72 as much after the aeration.

通気による駆逐速度を調べた。その結果は Fig. 2 にみられるように比較的鮮度低下の少ない肉の VRS は早く揮発するが，鮮度低下の進んだものの VRS には揮発性の小さいものを含むことが推察される。

しかし同一試料に NaOH を加えて pH 9.3 としてから通気すると，鮮度差による VRS の揮発性の差は比較的に小さいようである。もつとも pH 9.3 の場合には前項で検討したように塩基性 VRS も含まれているので，必ずしもこの見かけの値から中性VRSの揮発性が中性とアルカリ性とで異なるとは結論できない。

4. トリメチルアミンの室温における酸化速度および通気による駆逐速度

塩基性物質の代表としてトリメチルアミン（TMA と略記）を用いて室温における酸化速度を測定した結果は，Table 3 にみられるように 120 分放置の値に対して 40 分放置の値は 88% であつたが，加熱酸化した値に対しては 40 分の値は 75% に相当している。つぎに種々の pH において 1.3 l/min. の通気 40 分による駆逐速度は，加熱酸化値に対して pH 9.3 の場合 46% であつたが，pH 7.7 の場合 9%，pH 7.0 の場合 2% にしか過ぎなかつた。すなわち抽出液の pH が中性附近であれば，室温では TMA の通気駆逐はほとんど行われないといえる。

5. 通気法と蒸留法との比較

南印度洋で漁獲し，種々の鮮度保持試験に用いたビンチョウマグロの肉を定量法の項に示すような方法で除蛋白し，沪液について富山等の蒸留法および本改良通気法によりそれぞれ VRS 値を求めた。それらの結果は Table 4 に示すように，一例を除いては本通気法でえられた VRS 値は蒸留法値の平均 49%，95%

Table 4. Comparison between the present method and the steam distillation method (TOMIYAMA et al[3]).

Sample flesh of albacore		Aeration method (1) μe/g	Distillation method (2) μe/g	$\frac{(1)}{(2)}\times 100$
104*	A[1]	12.9	24.8	52
	C[3]	5.7	10.8	53
	D[4]	16.6	29.8	56
	E[5]	16.5	17.2	96
	F[6]	43.2	93.5	46
154†	A	11.9	21.0	57
	B[2]	7.5	14.3	52
	C	6.1	11.6	53
	E	13.0	28.3	46
	F	56.0	111	50
	G[7]	7.0	16.2	43
304§	A	12.0	21.2	57
	B	5.9	15.5	38
	D	15.7	31.9	49
	E	15.3	35.0	44
	F	41.6	94.5	44
	G	5.7	11.8	48
				49.3 ± 5.5**

* Eviscerated fish dipped in 10-ppm CTC-sea water and CTC-iced for 40 days.
† Eviscerated fish dipped in 40-ppm CTC-sea water and CTC-iced for 40 days.
§ Round fish stored in iced CTC-sea water for 28 days.
[1]A: dorsal part, 0～10 mm from the skin.
[2]B: dorsal part, 10～20mm from the skin.
[3]C: center portion of the dorsal mascle.
[4]D: belly part, 0～10 mm from the skin.
[5]E: inner part of visceral cavity, 0～20 mm from the cavity.
[6]F: dark muscle.
[7]G: muscle near vertebral bone.
** standard deviation and average were calculated in rejecting an extreme value, 96,

信頼限界は ±2.9 であつた。

考察

LANG 氏等[1] は食品の VRS を通気法で定量しようと試み，通気量，温度等の条件を吟味した結果，一つの通気定量法を 1944 年に提出した。1948 年より 1956 年にかけて FARBER 氏等[2] は実験室の空気中の還元物質によつて盲検値が高くなると考えて装置を密閉式としてポンプで通気するように改変し，また残存する $KMnO_4$ をヨードメトリーで定量するように改良した。FARBER 氏等の方法は圧搾汁を用いるために通気中に発泡が甚だしく，通気容器も大きくならざるをえない。また一つの装置には一つのポンプを必要とするので，多数の定量には数台の高価な装置を必要とする。さらに大きな欠点は通気駆逐する化合物の性質が未知であり，肉の鮮度低下中に生ずる VRS の揮発性についてさえ検討されていないことである。VRS が肉類の鮮度を示すよい指標であるに関わらず FARBER 法が普及していないのは以上のような不備によると考えられる。

本研究においては，まず装置について検討したところ，最も簡単な通気装置 (Fig. 1) が実際に使用でき，二, 三の予備試験で FARBER 氏の装置を用いた場合と VRS 値に差のないことを知つた。したがつてこれを用いて中性および塩基性 VRS の駆逐速度を検討したところ，(1) $MgSO_4$ を含む除蛋白液からの駆逐率は水溶液からのものより大きいこと，(2) 鮮度を異にする肉の中性 VRS は異なる揮発性をもつこと，(3) pH 9.3 で通気して塩基性物質をもともに定量する方が大きい VRS 値を与えるので定量の誤差を小さくできることなどを明らかにした。なお FARBER 法では主として中性物質を定量していることも分つた (Table 2 および 3)，また室温で通気後，直ちに $KMnO_4$ の残量を定量することは，VRS との反応が完結していない懸念があるので，加熱酸化法を採用すべきことを注意した。

以上のような研究結果を基礎として一改良通気法を定め，本法による値と水蒸気蒸留法[3] とを比較した。前者の VRS 値は後者のものの平均 49% であつたことは，水蒸気蒸留法による VRS には揮発性の低いものがあることを示唆している。定量能率の点から両者を比較すると，いずれも一人で1時間に 6～7 定量ができる点では大差がないといえる。

生肉を試料とする場合には圧搾汁がえられ難いので，本法と FARBER 法との比較はできなかつたが，缶詰肉を用いて両方法の比較を目下実施中である。

総括

1. VRS の通気定量法を改良し，供試肉の $MgSO_4$ による除蛋白液を用い，これをアルカリ性として 40 分間通気し，残存過マンガン酸カリをヨードメトリーで定量するようにした。

2. FARBER 法の通気条件では，[illegible]の中性 VRS および塩基性 VRS は煮沸酸化値のそれぞれ 29% および 18% であつた。しかし $MgSO_4$ の存在で pH 9.3 で 40 分間通気すると，それぞれ 41% および 48% 回収された。

3. マグロ肉の除蛋白抽出液を中性で通気すると，原料肉の鮮度によつて中性 VRS の駆逐率に差が認められた。

4. TMA の通気駆逐率は pH 7.0～7.7 では 2～9% に過ぎなかつたが，pH 9.3 では 46% であつた。

5. マグロ肉の VRS を本通気法で定量した値は富山等の蒸留法値の約 1/2 に相当した。

文献

1) LANG, O. W., FARBER, L., BECK, C. and E. YERMAN: *Ind. Eng. Chem.*, Anal. Ed., **16**, 490 (1944).
2) FARBER, L.: *Food Technol.*, **3**, 300 (1948). *ibid.*, **6**, 319 (1952). FARBER, L. and FERRO, M.: *ibid.*, **10**, 303 (1956).
3) 富山哲夫・池浦一也・大山重信: 本誌, **26**, 33 (1960).
4) 富山哲夫・池浦一也: 本誌, **26**, 128 (1960).
5) TOMIYAMA, T., ANTONIO DA COSTA, and J. A. STERN: *Food Technol.*, **10**, 614 (1956).

日本水産学会会則

総　則

第 1 条　本会は日本水産学会と称する。

第 2 条　本会は水産学の進歩並びに水産に関する知識の向上と普及を図るのを目的とする。

第 3 条　本会は前条の目的を達するために次の事業を行なう。

1. 水産に関する学術研究会，講演会，談話会，及び分科会等の開催。
2. 会誌（日本水産学会誌）の発行。
3. 学術上，応用上功績顕著なものの表彰。
4. その他前条の目的を達するために必要な事項。

第 4 条　本会の事業年度は毎年4月1日に始まり翌年3月31日に終る。

会　員

第 5 条　会員には次の5種がある。

1. 普通会員　2. 団体会員　3. 賛助会員　4. 外国会員　5. 名誉会員

第 6 条　普通会員は水産学を修めた者又は本会の趣旨に賛成する者。

団体会員は本会の事業に関係する研究・教育機関で本会の趣旨に賛成するもの。

賛助会員は本会の趣旨に賛成し事業を援助するもの。

外国会員は海外に在住し水産学を修めたもの又は本会の趣旨に賛成するもの。

名誉会員は水産学の功労者で，評議員会で推薦された者。

第 7 条　本会に入会するには会員2名の紹介により本会に申込み，理事会の承認により決定される。

第 8 条　会員は会費として次の金額を前納しなくてはならない。会員には会誌を毎号1部ずつ配布する。

1.	普通会員	会費1年	1,200 円
2.	団体会員	会費1年	3,000 円
3.	賛助会員	会費1年	10,000 円
4.	外国会員	会費1年	7 ドル（米ドル）
5.	名誉会員	会費	要しない。

第 9 条　本会の会則に背き又は本会の名誉を損う行為のあつた会員は，評議員会の決議によつてこれを除名する。

第 10 条　会費を滞納した会員は，評議員会の決議によつてこれを除籍することが出来る。除籍された者で滞納会費に相当する金額を納めるときは，会則第7条の手続を経て再び入会を許すことがある。

役員及び委員

第 11 条　本会には次の役員及び委員を置く。

1. 役員：　会長1名，副会長1名，評議員 50 名，学会賞詮委員長1名，同副委員長1名，編集長1名，副編集長1名，編集理事 36 名（一般関係 18 名，化学関係 18 名），会計理事2名，庶務理事4名，監査2名。
2. 委員：　学会賞詮衡委員 14 名（委員長1名，副委員長1名を含む）。

第 12 条　評議員は毎年総会前に各支部別に選出する。但し次の者は定員外評議員とする。

1)　副会長，支部長，編集長，副編集長，学会賞詮衡委員長，副委員長，年会・大会・分科会の委員長，本会選出日本農学会評議員，同運営委員，海洋学研究連絡委員。

2)　本会運営上特に必要な場合，10 名を限度とし評議員会の議を経て会長が推薦した者。

会長，副会長，理事，監査，編集長，副編集長及び学会賞詮衡委員は評議員会に於て選出する。

学会賞詮衡委員長，同副委員長は学会賞授賞細則に則り選出する。

役員及び委員の任期は 1 カ年とする。但し再任を妨げない。

第 13 条　会長は本会を代表し会務を総括する。副会長は会長を補佐し，必要に応じ会長の任務を代行する。

評議員は会の重要な事項を審議する。

編集長は会誌の編集と発行を行なう。副編集長は編集長を補佐し，必要に応じ編集長の業務を代行する。

理事は会務を処理する。監査は会務を監査する。学会賞詮衡委員は日本水産学会賞授賞者を決定し，農学賞その他の授賞候補者を選定する。

会　　議

第 14 条　会議には総会，評議員会，理事会，編集会議及び学会賞詮衡委員会の 5 種がある。

第 15 条　総会を通常総会及び臨時総会とする。通常総会は毎年 1 回 4 月又は 5 月に会長が招集し，出席会員により成立する。臨時総会は評議員会で必要と認めた時これを開く。

第 16 条　総会は会務の報告を受け，予算その他必要な事項を議定する。

第 17 条　評議員会は会長，副会長及び評議員を以て組織し，会長が招集又は評議員 5 名以上から議案を添記して開会の請求があつた時に開く。

第 18 条　評議員会は会則の改正，予算案の承認，その他重要な事項を審議決定する。

第 19 条　理事会は会長，及び理事を以て組織し，会長が招集する。

第 20 条　理事会は会務を処理し，評議員会の承認を受ける。

第 21 条　編集会議は編集長，副編集長及び編集理事を以て組織し，編集長が招集する。

第 22 条　学会賞詮衡委員会は学会賞詮衡委員を以て組織し，学会賞詮衡委員長が招集する。

支　　部

第 23 条　本会には支部を置く。

第 24 条　支部長 1 名，支部幹事若干名を置く。

第 25 条　支部長及び支部幹事はそれぞれ支部に於て選出し，会長が之を委嘱する。

附　　則

第 26 条　会員が会則を改正しようとするには，会員 20 名以上の賛成を得て評議員会にその案を提出する。

第 27 条　会則の施行に必要な事項は別に細則で定める。細則の制定及び変更は理事会の決議によってこれを行なう。

第 28 条　予算の範囲内で有給職員を置くことができる。

第 29 条　本会の事務所は，東京都港区芝海岸通り 6 丁目　東京水産大学内に置く。

第 30 条　本会則は昭和 35 年 4 月 1 日から実施する。

昭和 35 年度役員及び委員

（敬称略）

会　　長　　田内森三郎
副会長（定員外評議員）　関根　隆
監　　査　　松江吉行，右田正男
編集長（定員外評議員）　大島泰雄
副編集長（　〃　）　橋本芳郎

評議員
北海道　時田　郇，田村　正，吉村克二，斎藤恒行，佐藤　栄，五十嵐彦仁，岡田　儁
東　北　今井丈夫，土屋靖彦，谷田専治
関　東　久保伊津男，稲葉伝三郎，中井甚二郎，田内森三郎，末広恭雄，猪野　峻，宇田道隆，近藤　仁，野中順三九，岡田郁之助，天野慶之，高橋豊雄，小坂部　勇，右田正男，松浦文雄，東　秀雄
中　部　岡田彌一郎，中村中六，立野新光，三宅正人，内橋　潔，田村　保，野口栄三郎
近　畿　清水　亘，松原喜代松，木俣正夫，松井佳一，門田　元
中国四国　中村広司，松平康雄，松井　魁，吉田　裕，矢部　博，新田忠雄
九　州　内田恵太郎，富安行雄，入江春彦，辻田時美，瀬川宗吉，柏田研一

会長推薦に依る評議員（定員外評議員）　相川広秋，石井省一郎，岡　尊信，真田健三，大塚辰雄，小林小一郎，岡井正男，中谷由路，菊田隆一

海洋学研究連絡委員（定員外評議員）　熊凝武晴，栗田　晋

支部長（定員外評議員）
北海道…大垣光平　東　北…今井丈夫　関　東…小野豊樹　中　部…川本信之
近　畿…川上太左英　中国四国…花岡　資　九　州…富山哲夫

年会委員長（定員外評議員）　栗田　晋
大会委員長（　〃　）　今井丈夫
農学会評議員（　〃　）　大島泰雄，松江吉行
農学会運営委員　新崎盛敏

文部省科学研究費等分科審議会委員
一　般…松江吉行　化　学…橋本芳郎
同　協力委員
北海道　井上直一，谷川英一
東　北　井井丈夫，土屋靖彦
関　東　江草周三，稲葉伝三郎，鴻巣章二，小野豊樹
中　部　川本信之，立野新光
近　畿　松原喜代松，清水　亘
中国四国　松平康雄，松本文夫
九　州　入江春彦，富安行雄，田中　剛

学会賞詮衡委員長（定員外評議員）　森高次郎
同　副委員長（　〃　）　松江吉行
同　委　員
（一　般）　稲葉伝三郎，猪野　峻，今井丈夫，内田恵太郎，大島泰雄，松平康雄
（化　学）　天野慶之，岡田郁之助，清水　亘，土屋靖彦，橋本芳郎，右田正男

編集理事
（一　般）　江草周三，草下孝也，新崎盛敏，須藤俊三，土井長之，野村正恒，宇佐美修造，中村守純，保科利一，妹尾次郎，岩本康三，神田献二，宮崎千博，元田　茂，

　　　　　　　　　　門田　元，山本護太郎，村上　豊
（化　学）　鴻巣章二，内藤幸二，橋本周久，岡田　稔，平尾秀一，山川健重，横関源延，河端俊治，荻野珍吉，平野　弘，菊池武昭，久保田　穣，高木光造，米　康夫，浅野元一，河合　章，藤井　実，新田忠雄

庶務理事　本多勝司，須山三千三，新崎盛敏，高木和徳

会計理事　今村　豊，堀江　進

学会賞授賞細則

1. 賞の性格

功績賞とする。

2. 授賞数

年2篇として1篇は水産一般，1篇は水産化学関係とする。但し該当者（論著）のない場合は授賞しない。

3. 授賞者の資格

日本水産学会々員

4. 授賞論文の選定基準

既印刷の学術上，応用上功績顕著なる論著

5. 詮衡方法

i　詮衡委員長及び副委員長は詮衡委員の互選により選出する。

ii　詮衡委員長は詮衡委員会を主宰し，庶務理事及び庶務委員の補佐により詮衡を促進する。

iii　候補論文の選定並びに授賞論文の決定方法

評議員は詳細な推薦の理由書を附して委員長に候補論文を1篇指定通告する。委員長はこれを部類別に候補論文表として一括印刷し，詮衡委員に配布し，詮衡委員は候補論文表に基き部類別に順位を付して委員長に提出し，委員長は授賞論文の順位を決定する。委員長は委員会を開いて最後的決定をなし，賞状の原案は詮衡委員長これを作成して会長に提出する。

6. 授賞

賞状及び賞金を以てする。賞金は1篇2万円とする。総会の際授賞する。

附則

農学賞その他授賞候補者の選定はこの細則に準じて詮衡委員会が行う。

雑　　　録

昭和35年度日本農学大会水産部会

(日本水産学会年会)

時　　；昭和 35 年 4 月 4 日～7 日
場　所；東京大学教養学部
委員長；栗田　晋
副委員長；高橋豊雄，阿部宗明

○ 総　会　4月5日　13.00 より

1. 開会の辞（本多勝司理事）
2. 議長選出（岡田彌一郎）
3. 会長挨拶（田内森三郎）
4. 会務報告
   イ. 一般会務報告（須山三千三理事）
   ロ. 会計決算報告（堀江　進理事）
5. 昭和 35 年度予算上程（堀江　進理事）
6. 昭和 34 年度日本水産学会賞授与
   受賞者　石山礼蔵氏「日本近海産ガンギエイ科魚類の研究」
   　　　　浅野元一氏「貝毒成分の研究」
7. 学術会議報告（森　高次郎学術会議員）
8. 閉会の辞（本多勝司理事）

昭和34年度会務報告

1. 会　議
   年　会　34 年 4 月 1 日～5 日　於東京大学教養学部　委員長　松江吉行氏
   大　会　34 年 10 月 25 日～27日　於大阪府立大学農学部　委員長　木俣正夫氏
   評議員会　4 回（内書状によるもの 2 回）
2. 会　誌
   Vol. 24, No. 12～Vol. 26, No. 3 の 12 冊を刊行
   (但し，巻号数切替えのため Vol. 25 中 7・8・9 合併号および 10・11・12 合併号を発行した)
   原　稿　34 年 3 月まで受理したものの印刷残　37 篇（内中止 3）
   　　　　34 年 4 月から 35 年 3 月末まで受理　197 篇
   　　　　34 年度印刷篇数　182 篇
   　　　　Vol. 26, No. 4（4 月号）以後に残るもの　49 篇
3. 会員移動
   　　　　34 年 3 月末現在　1467 名
   　　　　35 年 3 月末現在　1486 名

内　訳

名誉会員　4名（国内2名，外国2名）
入　会　（個人 98，団体 3）
退　会　（〃　43，団体 3，賛助 2，除名 34）
（除名予定者 21 名）

4. 本年度間の主要議事

a. 役員関係

イ．昭和 35 年度農学会評議員には大島泰雄氏および松江吉行氏を，同運営委員には新崎盛敏氏を選出した。

ロ．任期未了の橋本芳郎氏とは別に本学会から文部省科学研究費等分科審議会委員候補者2名を選出し，日本学術会議に推薦の結果，次の如く決定した旨の通知があつた。

　松　江　吉　行氏（一般）
　橋　本　芳　郎氏（化学）

ハ．学術会議会員選挙における中央選挙管理委員に松浦文雄氏を委嘱し，農学会に報告した。

(Vol. 26, No. 3)

b. 経理関係

イ，本学会誌刊行に対し文部省研究成果刊行費補助金 15 万円の交付決定をみたので，本年度予算の修正を行つた。

ロ，秋季大会委員長木俣正夫氏から大会経費の残額 13 万円を学会に寄附の申出があつたのでこれを受け入れ，大会記念号の発刊を決定した。

ハ，新たに外国会員制度（個人）を設けることに決定し，会費は7ドル（米ドル）に決定した。

(Vol. 25, Nos. 7・8・9)

ニ，原子力シンポジウム分担金　5,000 円

ホ，日本農学会分担金　35 年度分　11,472 円（前払）

c. 事業関係

イ，日本原子力学会と共催で，昭和 35 年2月11日～13日に第1回原子力研究総合発表会を開催した。

d. 委員会関係

イ，海洋総合研究所設立運動の経過が設立促進合同委員会委員栗田　晋氏より報告された。

(Vol. 25, Nos. 7・8・9)

ロ，学会と業界の研究上の交流を目的とする業界研究連絡委員会[illegible]，[illegible]氏および同委員野中順三九氏より報告された。　(Vol. 25, No. 6 および Nos. 7・8・9)

ハ，自然保護に関する研究連絡協議会（仮称）の設立に対し本会委員に[illegible]氏および[illegible]氏を委嘱し，第1回準備委員会（12月3日）の経過が久保氏より報告された。　(Vol. 26, No. 1)

e. 学会賞等関係

イ，日本水産学会賞受賞者は次の如く決定した。

　水産一般部門　石山礼蔵氏「日本近海産ガンギエイ科魚類の研究」
　水産化学部門　浅野元一氏「貝毒成分の研究」

ロ，日本農学賞候補者として松原喜代松氏が推薦されたが，同氏が辞退したため，農学会に推薦することを取りやめた。

ハ，毎日学術奨励金に関しては富山一郎，阿部宗明両氏の「南氷洋の魚類の研究」を推薦した。

(Vol. 25, No. 4)

ニ，朝日賞および大河内賞候補論文の推薦は行わないことに決定した。　(Vol. 25, Nos. 7・8・9)

ホ，農学会賞および水産学会賞以外の各賞（朝日賞等）の候補論文は一般関係7名，化学関係7名から

成る学会賞等詮衡委員会において詮衡することに決定した。 (Vol. 26, No. 3)

f. 国際会議関係

1960年度開催予定の第6部関係国際学術会議のうち，第2回国際獣医食品衛生会議には富山哲夫氏および河端俊治氏を，国際海洋探査会議 50 回年次会には佐々木忠義氏を本学会推薦候補者に決定し，学術会議に推薦した。 (Vol. 26, No. 2)

g. 一般事項

イ，昭和 35 年度年会は次の如く決定した。

日　時　　昭和 35 年4月4日～7日

場　所　　東京大学教養学部

委員長　　栗　田　晋氏 (Vol. 26, Vo. 1)

ロ，会誌の発行号切替えを実施し，1月に1号を発行することに決定した。 (Vol. 25, Nos. 7・8・9)

ハ，会誌印刷部数を 100 部増加し，1,800 部とした。 (Vol. 25, No. 1)

昭和34年度収支決算報告

収入の部 科目	金額	支出の部 科目	金額
前年度繰越金	459,890円	学会誌印刷費	2,554,545円
普通会費	1,749,860	学会誌発送費	179,248
賛助会費	380,000	通信雑費	77,173
著者負担印刷費	674,740	年会費	20,000
文部省補助金	150,000	大会費	20,000
秋季大会余剰金	130,000	支部補助費	50,000
雑収入	529,832	集会費	11,650
雑収入内訳 広告料	251,000	日本農学会分担金	11,472
予金利子	10,845	原子力シンポジウム分担金	5,000
バック・ナンバー代	75,740	学会賞金	40,000
外国会費	97,467	事務人件費	329,220
ファイル代	55,555	事務雑費	23,600
原稿用紙代	12,469	雑支出	311,773
その他	26,756	繰越金	440,641
計	4,074,322円	計	4,074,322円

昭和35年度予算

収入の部 科目	金額	支出の部 科目	金額
前年度繰越金	440,641円	学会誌印刷費	2,300,000円
普通会費	1,550,000	学会誌発送費	200,000
賛助会費	350,000	通信雑費	75,000
外国会費	60,000	年会費	20,000
著者負担印刷費	550,000	大会費	20,000
文部省補助金	100,000	支部補助費	50,000
雑収入	410,000	集会費	15,000
内訳 広告料	370,000	日本農学会分担金	12,000
その他	40,000	原子力シンポジウム分担金	5,000
		学会賞金	40,000
		事務人件費	350,000
		事務雑費	35,000
		役員旅費	70,000
		雑支出	220,000
		予備費	48,641
計	3,460,641円	計	3,460,641円

昭和35年度日本農学大会水産部会

(日本水産学会年会)

プ ロ グ ラ ム

学会賞受賞者記念講演

日本近海産ガンギエイ科魚類の研究……石山礼蔵（水講）
貝毒成分の研究……浅野元一（東北大農）

特別講演

ニタリ鯨について……大村秀雄（鯨研）

水産一般

1. 中層曳網の曳網深度の計算……°鈴木乙彦・中戈 啓・川上太左英（京大水）
2. 底曳網の網成……°中戈 啓・鈴木乙彦・川上太左英（京大水）
3. まき網の網目に関する考察……井上実（水大）
4. 動的な方法による糸の弾性率 E の測定について……°谷田一衛・佐々木忠義（水大）
5. 網糸の伸びと捩れ偶力について……永田正（水大）
6. 繰返し引張荷重による網糸の疲労……本多勝司（水大）
7. サケ，マス流刺網における投揚網時刻と魚群の罹網との関係について……小池篤（水大）
8. 漁撈用飼料に関する研究—I．ブリふかせ釣り用餌について
……°金田尚志・小山武夫・石井清之助（東海水研）
9. 印度洋におけるキハダマグロの魚群分布密度について……平山信夫（水大）
10. 巾着網の工学的研究—I．模型における計測……石井一美・°小長谷庸夫（三重県大水）
11. 鮭鱒流網の張力測定—II．……近藤仁・鈴木誠（水大）
12. 桝網の漁獲について—II．種別漁獲量と潮差との関係……角田俊平（広大水畜）
13. 各種魚類の游泳音について……宇野道夫・°小長谷庸夫（三重県大水）
14. 海水中の光と魚群の性状について—I．……熊凝武晴・佐々木章康・鈴木裕（水大）
15. 水中光の角度分布の測定とその装置について—II．
……佐々木忠義（水大）・渡辺精一・°大柴五八郎・岡見登（理研）
16. 琵琶湖の研究—水温と濁度の分布について
……佐々木忠義（水大）・渡辺精一・°大柴五八郎・岡見登（理研）
17. 日本近海産アカエイ類の口内底突起の比較解剖……石山礼蔵（水講）
18. トンキン湾および近接類似水域の底魚類……°石山礼蔵・名田知之（水講）
19. メイチダイの三型について……赤崎正人（京大農）
20. 人工魚礁埋没に関する研究—I．個体の沈下について……佐藤修（北大水）
21. 凌風丸による日本海溝の深海生物調査（JEDS-2）報告—I．
採集器具について……高山重嶺（東海水研）・熊凝武晴・°石野誠（水大）
22. 凌風丸による日本海溝の深海生物調査（JEDS-2）報告—II．
プランクトンについて……丸茂隆三（気象庁）・°小牧勇蔵（東大農）
23. 凌風丸による日本海溝の深海生物調査（JEDS-2）報告—III．
底棲生物について……末広恭雄（東大農）・岡田彌一郎（三重県大水）
堀越増興（お茶の水大理）・°岩井英次（東大農）

24. 凌風丸による日本海溝の深海生物調査 (JEDS-2) 報告—IV. 各種深海生物について
……°末広恭雄・岩井英次・小牧勇蔵 (東 大 農)
堀越増興 (お茶の水大理)・石野　誠 (水　大)
25. 八ケ嶽火山湖沼群の湖沼学の研究—II. 白駒池における浮游性ミズダニの
季節的消長について ……°門田定美・小久保清治 (日大農獣)
26. 養まん池の物質代謝系に関する量的考察 ……°佐野和生・松江吉行 (東 大 農)
27. 水槽内における各種環境条件の研究—IV. 電導度について ……°出口吉昭・小久保清治 (日大農獣)
28. 南氷洋における沖あみ (*Euphausia superba*) および北太平洋沖あみの餌料
……根 本 敬 久 (鯨　研)
29. *Centropages abdominalis* Sato の nauplius larvae……古 賀 文 洋 (九 大 農)
30. 陸奥湾産ホタテガイの"異状発生"……山 本 護 太 郎(山形大文理)
31. Phytoplankton 細胞数と Acetone 抽出色素量の周年変動
……°飯塚昭二・清水千秋・梶原　武・入江春彦 (長崎大水)
32. 酸およびアルカリ類の魚類におよぼす影響……日 比 谷　京 (東 大 農)
33. 毒物に対する魚類の反応—II. 炭酸に対する反応……石 尾 真 彌 (九 大 農)
34. 毒物に対する魚類の反応—III. アムモニヤに対する反応……石 尾 真 彌 (九 大 農)
35. 水質汚濆が水産生物におよぼす影響. 炭鉱廃水が魚類におよぼす影響
……石尾真彌・°富山哲夫 (九 大 農)
36. 有機試薬による汚濆斃死魚死因判定について—III. ……°狩谷貞二・芳賀克子 (東北大農)
37. 眼科検査法に依る病態魚類の診断技法について……村 地 四 郎 (広大水畜)
38. 塩釜湾の全 N, 全 P および尿素態 N の周年変化について ……長倉克男・°川崎典子 (東北水研)
39. 海洋性硝酸化成細菌に関する研究—I. 硝酸化成細菌の培養法並びに
その分布について ……木俣正夫・河合　章・°吉田陽一 (京 大 農)
40. 海況の変動を解析するための一試案……角 田 俊 平 (広大水畜)
41. 豆南・房総沖に現われる冷水域—I. ……藤 森　完 (東海水研)
42. 伊勢湾におけるイカナゴ漁について……宮 村 光 武(三重水試伊勢湾)
43. 伊勢湾におけるイカナゴの漁況予報について—I. 宮村光武・°木野俊郎・赤額安彦(三重水試伊勢湾)
44. 伊勢湾におけるイカナゴの漁況予報について—II. 宮村光武・木野俊郎・°赤額安彦(三重水試伊勢湾)
45. ゴマサバの稚・仔魚の分布・移動と環境要因の研究—I.
大隅群島周辺における仔魚の採集層と海況 ……田ノ上豊隆・°玉利達夫 (鹿 大 水)
46. 東北海区におけるサンマ漁場の南下速度……黒 田 隆 哉 (東北水研)
47. 本邦東方海域の海況変動が冬, 夏ビンナガ魚群の生態と漁場形成におよぼす影響
……井 上 元 男(東海大水研)
48. 東支那海におけるシロカジキの漁場構成について……盛 田 友 弌 (鹿 大 水)
49. まき網漁況と操業中に起る網の喪失, 破損の発生率との関係……速 石 和 勇 (東海水研)
50. 建網漁場における魚群の生態 ……°野本義秀・小林新二郎 (北 大 水)
51. 北洋における捕鯨漁場と捕獲鯨の分布……奈 須 敬 二 (鯨　研)
52. 捕鯨統計の解析……吉 原 友 吉 (水　大)
53. 北太平洋サケマス漁場と海況との関係……宇 田 道 隆 (水　大)
54. 1958 年 9 月～1959 年 3 月東海海域における Copepoda 幼体の分布について
……本城康至・°木立　孝・鈴木秀彌 (東海水研)
55. マイワシ・カタクチイワシの冬期稚仔の食餌について
……中井基二郎・°本城康至・木立　孝 (東海水研)

56. カタクチイワシ卵巣卵の卵径組成からみた成熟と卵数について ····°宇佐美修造(東海水研)・杉山久治
57. カタクチイワシの資源生物学的研究—III. ······························竹 下 貢 二 (九 大 農)
58. 日本近海におけるタイワンアイノコ *Stolephorus zollingeri* (Breeker) の
出現について··············林 繁一 (東海水研)・°田所 瑛 (水大)・代読 近藤恵一 (東海水研)
59. シロサケおよびベニサケの成長と成熟の関係について ············°米盛 保・伊藤外夫 (北 水 研)
60. 北洋サケマス漁業資源調査の生物統計システムについて················石 田 昭 夫 (北 水 研)
61. 北太平洋公海に分布するシロサケの地理的起源の鱗相による識別—III.
鱗相形質の 1956 年および 1957 年の間の変動について··············佐 藤 隆 平 (東北大農)
62. 深流区に放流したマス稚魚の生残に関する研究—VII. Biomass のレベルと
それに関係する諸条件 ····°鈴木規夫(神奈川水指)・児玉康雄・田中 光・小野寺好之 (淡 水 研)
63. 深流区に放流したマス稚魚の生残に関する研究—VIII. Biomass の大きさに
関係する競争について ····°小野寺好之・児玉康雄(淡水研)・鈴木規夫(神水指)・田中 光(淡水研)
64. Radio Isotope によるニジマスの天敵の追跡
········°檜山義夫・能勢幸雄・清水 誠・松原純子 (東 大 農)
65. 東北海区解禁当初のサンマ魚集団の大きさとその魚体組成··············木 村 喜 之 助 (東北水研)
66. 東北海区の漁獲対象サンマ群団に対する添加群・離脱群の出現と
漁獲魚の体長組成の変化····································木 村 喜 之 助 (東北水研)
67. 資源の利用度 Availability についての一つの考え ····················山 中 一 郎 (日 水 研)
68. 昭和 29, 33 両年度における東北海区サンマの資源量と特性値··········栗 田 晋 (東海水研)
69. カツオの餌付について—II. 群の社会的条件の解析·····················堀 田 秀 之 (東北水研)
70. キハダの形態に関する公庁船資料の解析 ························檜山義夫・°鉄 健司 (東 大 農)
71. 黄鯛資源の周期的変動に関する考察·································岡 正 雄 (長崎大水)
72. マダイの年令と成長について······································三 尾 真 一 (九 大 農)
73. 太平洋沿岸マアジの給源について ··························°服部茂昌・渡辺泰輔 (東海水研)
74. 1958 年東北・東海区における沿岸資源の漁況と魚価との関係 ···········近 藤 恵 一 (東海水研)
75. ヒレグロの系統について·····························浜井生三(北大水)・石戸芳男 (東北水研)
76. 東京湾のマハゼの死亡諸係数··································能勢幸雄・檜山義夫 (東 大 農)
77. ミシマオコゼの年令と成長について······························温 泉 川 洋 彦 (九 大 農)
78. ガンゾウビラメの成熟について ·······························相川広秋・°松浦修平 (九 大 農)
79. 魚類の耳石の薄片標本作製法について(続報)························塚 原 博 (九 大 農)
80. ミジンコの人工餌料についての実験···································藤 田 惣 吉 (静岡大教)
81. 淡水魚における餌料蛋白質の消化について····························能 勢 健 嗣 (淡 水 研)
82. 養殖すっぽんに発生した脂肪代謝異常について—I. 発病状況と解剖所見
········°福田博業・木村正雄・黒木 暘 (宮崎大農)
83. 養殖すっぽんに発生した脂肪代謝異常について—II. 変性した蓄積脂肪の性状
········°福田博業・黒木 暘 (宮崎大農)
84. 底棲餌料生物による汚泥中の栄養物質の回収利用に関する研究—II.
Chironomus dorsalis の受精条件に関する研究(予報)··········°代田昭彦・松平近義 (東北大農)
85. 底棲餌料生物による汚泥中の栄養物質の回収利用に関する研究—III.
アカムシ (*Chironomus dorsalis*) 用人工有機泥培地について····松平近義・°代田昭彦 (東北大農)
86. 三重県養鰻池の植物プランクトン相··································岩 井 寿 夫(三重県大水)
87. 養鰻池の主要植物プランクトンの増殖に対する塩分の影響···············岩 井 寿 夫(三重県大水)
88. 養生ゴイと野生ゴイの生長比較試験 ······°加福竹一郎・横手 方・千葉健治・横手元義 (淡 水 研)

89. 汽水性ニシンの二，三の現象について………………°藤本　武(茨城水試)・北浜　仁（北水研）

90. 循環式水族館の沪過槽における溶存酸素量の減少と，それよりみた沪過の機能と沪過槽の管理について ………………平　山　和　次(須磨水族館)

91. トラフグ1年魚および2年魚の飼育とその成長について…………°熊井英水・原田輝雄（近畿大農）

92. トラフグ（若年魚）の蓄養について ………………橘　高　二　郎(太平洋養魚)

93. 介殻形成組織の伸長方向と真珠層中の結晶および有機物質の成長方向との関係 ………和　田　浩　爾（真珠研）

94. ムラサキイガイ浮游幼生期の飼育………………°平野礼次郎・大島泰雄・山辺　晃（東大農）

95. さざえの貝殻生成の分泌時期について ………………宇　野　　寛（水　大）

96. 北海道釧路地先におけるえぞばふんうにの棲息量について………°宇野　寛・浅見国治（水　大）

97. 北海道産ウニ類の生物学的最小形について ………………富　士　　昭（北大水）

98. ナマコの再生について………………大島泰雄・°崔　　相（東大農）

99. ガザミゾエア幼生の飼育法—I．摂餌および脱皮の日週期性と投餌時刻 ………八　塚　　剛(高知大宇佐臨海)

100. ガザミゾエア幼生の飼育法—II．照明効果について ………………八　塚　　剛(高知大宇佐臨海)

101. 網に付着するスタおよび付着生物の研究—II．ヌタ付着量の季節変動 ………°梶原　武・飯塚昭二・清水千秋（長崎大水）

102. ノリ簇の“ヨゴレ”について………………佐野　孝・°佐藤重勝（東北水研）

103. 有用藻類の分布と水温との関係について………………°遠藤拓郎・松平康雄（広大水畜）

104. 流れ藻の海藻学的研究—XVIII．対馬東・壱岐両水道流れ藻の周年変化 ………瀬川宗吉・沢田武男・°檜垣正浩・吉田忠生・香村真徳（九大農）

105. 流れ藻の海藻学的研究—XIX．九州西海岸のホンダワラ藻場に関する予察 ………瀬川宗吉・°沢田武男・檜垣正浩・吉田忠生（九大農）

106. 流れ藻の海藻学的研究—XX．福岡県津屋崎周辺のホンダワラ類群落 ………瀬川宗吉・沢田武男・檜垣正浩・°吉田忠生（九大農）

107. ノリ糸状体の色素並びに酸素放出について ………………佐　野　・　孝（東北水研）

108. アサクサノリの室内培養 ………………須　藤　俊　造（東海水研）

109. アサクサノリ糸状体の培養について ………………野　沢　洽　治（鹿大水）

110. アサクサノリ糸状体の病害について—黄斑病菌の性質について ……野沢メリ子(鹿児島純心女短大)

111. ノリの病害，特に 1959 年末頃東京湾奥部でみられた症状について ………新崎盛敏・井上晃男・河内康伸（東大農）

112. ノリの芽いたみに関する研究　II．有害な水の判別について……須藤俊造・°梅林　脩（東海水研）

113. 海苔の連続式採苗機の試作と採苗成果……°藤山虎也(広大水畜)・尾崎輔次・徳毛雅昭（日本製網）

114. 水中施肥に関する基礎的研究—I．天草の窒素源添加培養による窒素成分の変化 ………山　田　信　夫（静岡水試）

115. 真珠養殖過程中におけるアコヤガイの生活活動の変化が真珠形成におよぼす影響—II．冬期生活力が低下した時の真珠形成 ………………和　田　浩　爾（真珠研）

116. アワビ消化管内の寄生虫について ………………猪　野　　峻（東海水研）

117. 卵胞ホルモンによるドジョウの性転換について ………久保田善二郎・°松井　魁・西川昇平・関屋　正（水　講）

118. オホーツク海の稚魚 ………………小　林　喜　雄（北大水）

119. クルマエビの酸素消費量について………………°江草周三・前田芳彦（東大農）

120. ニホンアミの酸素消費量並びに生存限界溶存量について…………°村野正昭・松江吉行（東大農）

121. 入江の群集生態学的研究—Ⅰ．エビジャコの生態……………………°小坂昌也・畑中正吉　（東北大農）
122. 沿岸魚の生態に関する研究—Ⅱ．藻場におけるメバルの生態……°飯塚景記・畑中正吉　（東北大農）
123. カタクチイワシの飼育実験……………………………………………°髙橋正雄・畑中正吉　（東北大農）
124. マサバの食餌利用に関する研究—Ⅸ．Euphausia の転換効率……°畑中正吉・髙橋正雄　（東北大農）
125. マアジの成長と食物消費との間の関係—Ⅲ．…………………………°鈴木智之・畑中正吉　（東北大農）
126. スズキの成長に関する研究．松島湾のスズキの成長と食性について
………°関野清成・畑中正吉　（東北大農）
127. メジナ生殖巣の季節的循環について…………………………………°水江一弘・三上健彦　（長崎大水）
128. 鮭卵の発生過程における脂質の変化 ……………………………………浜　野　　繁　（北 大 水）
129. 魚類の耳石の成長について—Ⅱ．電子顕微鏡による表面の観察 ………入　江　隆　明　（広大水畜）
130. 硬骨魚眼の鎌状突起並びにその他の関連構造について—Ⅲ．
眼内血管の形成 ………………………………………………………………羽　生　　功　（名 大 農）
181. 魚類の麻酔剤について……………………………………°日比谷　京・長瀬悟明　（東 大 農）
182. ナガスクジラの相対成長 …………………………………………………大　隅　清　治　（鯨　　研）
183. 魚類の聴覚特性に関する研究—Ⅱ．側線の線型による方向知覚の
差について（続報）………………………………………………………黒　木　敏　郎　（鹿 大 水）
184. いかりむし幼虫の寄生，移動並びに変形雌虫の寄生率等について ……笠　原　正　五　郎　（東大水実）
185. ビワ湖産ナマズの多型について …………………………………………友　田　淑　郎　（京 大 理）
186. 魚類の赤血球にみられる凝血因子 ………………………………………結　城　了　伍　（北 大 水）
187. アユの一生における副輝組織の変化—特に産卵後の死因との関係 ……本　間　義　治　（新潟大理）
188. 再び金魚の素餌日週期と水温変曲点について……………………°平田八郎・小林新二郎　（北 大 水）
189. 金魚の投餌時刻………………………………………………………°平田八郎・小林新二郎　（北 大 水）

水　産　化　学

1. 塩折による myosin 系蛋白の分離…………………°上田侃男・志水　寛・清水　亘　（京 大 農）
2. イカ外套膜筋肉の2種のトロポミオシンについて—Ⅰ．アミノ酸組成および
2，3 の化学的性質 ……………………………………吉村克二・°久保周一郎　（北 大 水）
3. イカ外套膜筋肉の2種のトロポミオシンについて—Ⅱ．大きさ，形および
他動物との比較………………………………………吉村克二・°久保周一郎　（北 大 水）
4. コイ肉蛋白質の冷凍中の変性 ……………………………………右田正男・°大竹茂夫　（東海水研）
5. 乾燥による魚肉蛋白質の変性—Ⅱ．溶出蛋白分子の形状の変化
………右田正男・松本重一郎・°鈴木たね子・仁平政男　（東海水研）
6. 冷凍タラ肉のスポンジ化に関する研究—Ⅰ．スポンジ化した肉の観察…田　中　武　夫　（東海水研）
7. 冷凍タラ肉のスポンジ化に関する研究—Ⅱ．スポンジ化に対する冷蔵温度と
凍結法の影響……………………………………………………………田　中　武　夫　（東海水研）
8. サメ鰭翅繊維性蛋白 Selachin の化学的研究—Ⅳ．Selachin の耐熱性に関する
物理化学的および組織化学的観察について …………………土屋靖彦・°村瀬昌彦　（東北大農）
9. 鰹節のシラター Ⅰ．組織学的な 2，3 の知見 ………………°小泉千秋・野中順三九　（水　　大）
10. 乾製品の水戻り性に対する多燐酸塩の効果 …………°竹井　誠・尾崎裕子・髙橋豊雄　（東海水研）
11. 水産乾製品のハエ害防除に関する研究—Ⅲ．ハエの引きつけられる匂…竹　井　　誠　（東海水研）
12. 水産調味食品の研究—Ⅰ．佃煮製品の味について ……清水　亘・野村善彦・°藤田真夫　（京 大 農）
13. マグロ蒸煮肉の軟化方法について…………………髙橋豊雄（東海水研）・°弟子丸 修　（鹿 水 試）

14. タラバガニ缶詰肉の褐変現象に対する研究—VII. 低温煮熟における
褐変現象について ……………………………………谷川英一・°長沢善雄 (北大水)

15. かまぼこの“足”について ……………………………°志水 寛・清水 亘 (京大農)

16. “もどり”の現象について…………………………°志水 寛・吉本晴樹・清水 亘 (京大農)

17. 魚肉ねり製品の製造に関する基礎的研究—V. すり身の“坐り”および
“戻り”過程における蛋白質の溶解性の変化 ……………………大城善太郎 (鹿大水)

18. かまぼこすり身の凍結貯蔵中の変化—I. すり身の凍結とかまぼこの足
………池内常郎・清水 亘 (京大農)

19. 魚肉ねり製品の研究—X. かまぼこすり身に添加された塩類のかまぼこの
足におよぼす影響（その1）…………………………………岡村一弘(大阪市衛研)

20. 魚肉ねり製品の研究—XI. かまぼこすり身に添加された塩類のかまぼこの
足におよぼす影響（その2）…………………………………岡村一弘(大阪市衛研)

21. ねり製品（および魚肉ソーセージ）に関する研究—IX. カゼインおよび
脱脂大豆添加効果について ……………………………三宅正人・°野田宏行(三重県大水)

22. グルテンの魚肉ソーセージへの利用—I.
………清水 亘・°藤田真夫(京大農)・井上謙一(新進食料工業)

23. 定置網につくヌタの研究 ……………………………………°清水千秋・梶原 武 (長崎大水)

24. 海藻の化学的研究—II. ヒジキの酸可溶ヌクレオチッドについて ‥斎藤恒行・°辻野 勇 (北大水)

25. 海藻の栄養化学的研究—III. アサクサノリの phycobilin の単離と
その 2, 3 の性質 ……………………………………土屋靖彦・°佐々木 劭 (東北大農)

26. γ 線照射原藻より寒天製造の研究 ………°天野慶之・山田金次郎・尾藤方通・大竹茂夫 (東海水研)

27. イタニグサより寒天の新製造法に関する研究—V. イタニグサおよび
伊谷寒天の成分について ……………………°田川昭治・小島良夫・都原靖人 (水講)

28. イタニグサより寒天製造法に関する研究—VI. 伊谷寒天の性質について
………°小島良夫・山田芳生・田川昭治 (水講)

29. 蜜豆缶詰内の寒天ゼリーに関する研究—III. 寒天ゼリーの着色について
………小島良夫・白石友義・°大庭安正・鹿田敏明 (水講)

30. コロイド滴定による寒天膠質の性状判定…………………………谷井 潔 (東北水研)

31. 水産動物肝臓中の脂肪酸について ………………東 秀雄・°新間彌一郎・田口脩子 (東海水研)

32. サンマ餌料プランクトンの脂質成分について……………………長倉克男 (東北水研)

33. イルカ類油脂の研究—I. ……………………………°清水千秋・福原忠信 (長崎大水)

34. 水産動物燐脂質に関する研究—XXV. 軟体動物の燐脂質
………五十嵐久尚・°座間宏一・羽田野六男 (北大水)

35. スケトウダラ内臓油の高級アルコールについて ………°内藤幸次・徳田節子・橋本芳郎 (東大農)

36. 水産動物油中のビタミンD定量に関する研究—I. クロマトグラフによる
ビタミンD定量法の改良 ……………………………°山川健重・岩崎喜久子 (東海水研)

37. Cholesterol の熱分解について…………………… 内藤幸次・°徳田節子・橋本芳郎 (東大農)

38. ビタミンA濃縮物のテレフタール酸エステルの製造…………………衣巻豊輔 (東海水研)

39. 酸化魚油の抗菌作用に関する研究—XIII. 酸化イカ肝油 methyl ester の
carbonyl 化合物の gas-liquid chromatography による分離・同定…豊水正道 (九大農)

40. 塩化アルミニウムによる高融点の魚油塩素化物の生成………………鈴木康策 (水大)

41. 腸球菌に関する研究—X. 水, 食品等における腸球菌と大腸菌群との生存能
並びに発育能の比較………………………………………………堀江 進 (水大)

42. 腸球菌に関する研究—XI. 腸球菌の分離検出用の新平板培地 ……堀江 進・°佐伯和昭 (水 大)
43. 硫酸塩還元細菌の生理—I. 硫酸塩還元細菌の有機酸代謝(その1)‥門田 元・三好英夫 (京大食研)
44. Marine bacteria に関する研究—VI. 分離菌株の諸性状(その4)
……坂井 稔・木村喬久・°信濃晴雄・松浦哲夫 (北 大 水)
45. Marine bacteria に関する研究—VII. アルギン酸分解菌の簡易鑑別法について
……坂井 稔・°木村喬久・信濃晴雄 (北 大 水)
46. アルギン酸分解細菌について ……°安藤芳明・井上勝弘(北海道衛研)
47. 病原性好塩細菌に関する研究. 海水と好塩細菌との関係について
……°小嶋秩夫(国立衛研)・関根 隆 (水 大)
48. 魚肉ソーセージの軟化現象について—VI. ピロ燐酸ソーダの細菌芽胞に
およぼす影響 ……°内山 均・天野慶之 (東海水研)
49. 魚肉ソーセージより分離した *Bacillus* 類のブドウ糖代謝……横 関 源 延 (東海水研)
50. クロルテトラサイクリン処理した鮮魚の腐敗細菌について
……関根 隆・°堀江 進・佐伯和昭 (水 大)
51. 抗生物質による魚類の鮮度保持に関する研究—III. CTC, OTC の安定性, 抗菌力,
滲透性におよぼす海水成分の影響 ……°河端俊治・阪口玄二・赤野多恵子・中村友光子 (予 研)
52. Dipping 法により処理した魚体への CTC の滲透……°土屋靖彦・村田信輔 (東北大農)
53. 電気殺菌法の研究—XXVII. 好気性芽胞形成細菌胞子に対するフランス系防腐剤と
CTC との効力比較……°上野三郎・清水 亘 (京 大 農)
54. 水産食品の化学的保蔵の研究—X. トロポロン曹達を中心とする防腐剤の
鮮度保持におよぼす複用効果……鉄 本 総 吾 (東海水研)
55. 食品防腐剤に関する研究—II. *Proteus morganii* の発育阻止および
ヒスタミン産生能に対する影響…… 輿津知明 (埼玉衛研)・河端俊治 (予 研)
56. イオン交換樹脂法 (Amberite, CG-50) によるヒスタミンの簡易定量法
……河端俊治・内田 大・赤野多恵子 (予 研)
57. 魚肉鮮度低下に伴なう魚臭成分について—I. 揮発性カーボニル化合物
および硫黄化合物について…… 片山輝久 (広大水畜)・富山哲夫 (九 大 農)
58. 淡水魚の鮮度判定について……黒 田 栄 一(滋賀大学芸)
59. 嫌気的腐敗判定法の研究—I. 好気的腐敗と嫌気的腐敗の相違について
……土屋靖彦・°佐藤善夫 (東北大農)
60. 軟体動物の解糖に関する研究—I. …… °永山文男・小野豊樹 (水 大)
61. 魚類筋肉の解糖に関する酵素学的研究—III. ……°永山文男・小野豊樹 (水 大)
62. 魚類の肉質変化に関する生化学的研究—XIV. 魚肉の Acetylcholine 量と
Acetylcholinesterase 活性の消長 ……日高富男・斎藤 要 (鹿 大 水)
63. 魚類筋肉内燐酸化合物に関する研究—VII. 魚の飼育処理方法とミオシン
AT Pase 能の関係について……中 野 智 夫(聖霊女短大)
64. 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—XIX. 動物筋肉中の酸可溶核酸成
分の変化に対する CTC の影響 ……斎藤恒行・°・新井健一・造田俊勝・田中ツネ (北 大 水)
65. 水産動物筋肉の酵素化学的研究—IV. FDP の変化について……吉村克二・°柴田 猛 (北 大 水)
66. ペプシン種属差—III. …… 石原義雄・米田義昭・斎藤恒行 (北 大 水)
67. カツオ幽門垂蛋白分解酵素精製過程における Glycylplycine dipeptidase の動行
……°勝又悌三・斗ケ沢宣久 (岩手大農)

68. 魚類体表面粘質物に関する研究—VI. 各種魚体表面粘質物の構成アミノ酸の比較 ……………………………富安行雄・°榎本則行 （九 大 農）
69. 魚類体表面粘質物に関する研究 —VII. イオン交換樹脂法による鯔粘質物構成糖の再確認 ……………………………富安行雄・°榎本則行 （九 大 農）
70. マボヤの生化学的研究—IV. n-decadinol の構造について……………鈴 木 芳 夫 （東北大農）
71. マボヤの生化学的研究—V. 被嚢中の多糖類および蛋白質について ………土屋靖彦・°鈴木芳夫 （東北大農）
72. 水産物の糖蛋白に関する研究—V. ナマコ多糖類硫酸の結晶について ………元 広 輝 重 （北 大 水）
73. 淡水魚の $V.A_1$ および $V.A_2$ —VII. 雷魚肝臓乾燥物についての in vitro の実験 ……………………………°秦 満夫・大西登史良 （東北大農）
74. 底魚類のビタミンA蓄積速度 ……………………………°山村彌六郎・武藤清一郎 （東北水研）
75. 魚卵中のビタミンAアルデヒドについて ……………………山村彌六郎・°武藤清一郎 （東北水研）
76. マグロヘモグロビンおよびミオグロビンの色素部分について ……°山口雄三・松浦文雄 （東 大 農）
77. サケの2種ヘモグロビンの比較研究—III. 血液中における両ヘモグロビン量比 ………°橋本周久・松浦文雄 （東 大 農）
78. サケの2種ヘモグロビンの比較研究—IV. 酸素解離曲線について ………°橋本周久・山口雄三・松浦文雄 （東 大 農）
79. サケの2種ヘモグロビンの比較研究—V. アミノ酸組成について ………°江口 祝・橋本周久・松浦文雄 （東 大 農）
80. メバチ脊椎骨の青色素について ……………………………°土屋靖彦・村田信輔 （東北大農）
81. 水産動物の色素に関する研究—IX. (その2)・ナガウニ棘のナフトキノン ………西堀幸吉 （ノートルダム清心女大）
82. アサクサノリ糸状体の色素について (予報)……………………°佐藤孜郎・松本文夫 （広大水畜）
83. 肉のジホスホピリジンヌクレオチド (DPN)，ニコチン酸および同アミド含量について，特にビンナガマグロ青肉との関係 ……°藤巻正生・櫛田淑子・桜井芳人（東大農・お茶の水大家政）
84. 軟体動物エキス中のビタミンB群—I. B_6 および choline について ………°三宅正人・林 孝市郎（三重県大水）
85. Marine bacteria に関する研究—III. ビオチンの定量法 …………柿本大壱・°金沢昭夫 （鹿 大 水）
86. 海藻のビタミンに関する研究—VIII. ビオチンおよびその同族体の分別定量法 ………金 沢 昭 夫 （鹿 大 水）
87. カツオ幽門垂エキス中の *Leuconostoc Citrovorum* に対する新因子について ………柿 本 大 壱 （鹿 大 水）
88. 水産動物のエキス成分—V. アワビ筋肉のエキス成分について (その2) ………°鴻巣章二・葛西英一 （東 大 農）
89. 各種食品のイノシン酸含量 ……………………………°藤田孝夫・橋本芳郎 （東 大 農）
90. Nereistoxin の硫黄の形態と赤外部吸収について ………………橋本芳郎・°岡市友利 （東 大 農）
91. 海藻の香気に関する研究—VII. アオサの dimethyl sulphide 前駆物質について ………°俣野景典・遠山祐三 （予 研）
92. 紅藻ユナより分離せる一新アミノ酸について—I.……村田喜一・高木光造・°栗山光央 （北 大 水）
93. 紅藻ユナより分離せる一新アミノ酸について—II.……村田喜一・高木光造・°栗山光央 （北 大 水）
94. アサクサノリの生化学的研究—II. 諸種窒素源の利用状態について ………°伊藤啓二・佐藤孜郎・佐藤美和・松本文夫 （広大水畜）

95. アコヤガイ，イケチョウガイにおける有機酸の日週変化と Ca, P イオンの消長 ………堀 口 吉 重 (三重県大水)

96. Indophenol 法による海水中の微量アンモニアの定量………………沢 田 保 夫 (真 珠 研)

○水族生理学シンポジウム

1. 課　　題　　放射能と水産生物
2. 演題および講演者

(1) 欧米での水産生物の放射能影響研究の動向……………………檜 山 義 夫 (東　大)

(2) 海洋汚染と水産生物への放射能の移行過程について ………松平近義・津田　勉・渡辺競一 (東 北 大)

(3) 海水中の放射性物質の吸収と食物連鎖 ………°上野福三・辻井　禎・岡田彌一郎 (三重県大)

(4) Cs の水産生物による摂取………………………………°清水　誠・檜山義夫 (東　大)

(5) Co および I の生産生物による摂取 …………………°松原純子・檜山義夫 (東　大)

(6) 九州南方海域における魚類の放射能汚染の消長と検出される核種について ………°鮫島宗雄・斎藤　要・高田幸二 (鹿児島大)

(7) 水中 P^{32} の各種酸可溶性燐化合物への移行について ………°小林邦夫・富山哲夫 (九　大)

(8) 貝類の Ca^{45} および P^{32} の代謝について …………………堀 口 吉 重 (三重県大)

(9) 放射線照射による真珠の色の改良について ….°辻井　禎・堀口吉重・岡田彌一郎 (三重県大)

○生物環境シンポジウム　(日本海洋学会と共催)

1. 課　　題　　黒潮縁辺の冷水塊
2. 演題および講演者

(1) 主に水路部の調査に基く冷水塊………………………………吉 田 昭 三 (水 路 部)

(2) 主に気象庁の調査に基く冷水塊………………………………福 岡 二 郎 (気　研)

(3) 冷水塊生成機構の物理……………………………………………南 日 俊 夫 (気　研)

(4) 主として生物学的調査に基く冷水塊（漁業関係を含む）…………中 井 甚 二 郎 (東海水研)

(5) 東北海区の黒潮流周辺に発生する冷水塊，暖水塊の性状…………木 村 喜 之 助 (東北水研)

(6) 冷水塊に関する一般的報告（漁業関係を含む）…………………宇 田 道 隆 (水　大)

(7) 総合討論

○水産増殖シンポジウム　(水産増殖談話会)

1. 課　題　　増殖技術の実用化における諸問題

——ノリ人工採苗を中心として——
- ノリの生物的性質の面から………藤 山 虎 也 (広　大)
- ノリ養殖の政治・経営面から……荒 井 正 明 (水 産 庁)

○プランクトン・シンポジウムプログラム

1. 課　題　　深海のプランクトンについて

(1) 世界における深海研究の歴史……………………………………元 田　茂 (北　大)

(2) 1959 年9月凌風丸により採集した深海プランクトン

i) 凌風丸の調査概要 …………………………小牧勇蔵 (東　大)・丸茂隆三 (気 象 庁)

ii) 使用測器の説明 ……………………………………………小 牧 勇 蔵 (東　大)

iii) Euphausiacea について …………………………………小 牧 勇 蔵（東　大）
iv) Copepoda について …………………………………鬼 頭 正 隆（気象庁）
v) 珍らしい深海動物 …………………………………岩 井 英 次（東　大）

3. 日本プランクトン研究連絡会の運営に関する打ち合せ

正 誤 表

誤	正
1) p.p. 382 の最終行	
379～382 (1960).	383～388 (1960)
2) p.p. 388 の終りから 4 行	
383～388 (1960).	379～382 (1960)

昭和三十五年五月二十日 印 刷
昭和三十五年五月二十五日 発 行

第二十六巻 第五号

本号定価 150 円
(送料別)

編集兼発行者 大 島 泰 雄
東京都港区芝海岸通り 6 丁目 東京水産大学内

発行所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り 6 丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529 番
電話 (451) 2200 番

印刷者 笠 井 康 頼

印刷所 株式会社 国際文献印刷社

発売所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町 184
電話 (341) 7446

アマノリ類に寄生する壺状菌について

新 崎 盛 敏

(1959 年 12 月 26 日受理)

A CHYTRIDEAN PARASITE ON THE *PORPHYRA*

Seibin Arasaki*

A Chytridean parasite was frequently found on the fronds of cultured *Porphyra*. It occurred in several culture fields along the coast of central and northern Japan, especially in the north-eastern region, and it appeared for almost all culture-seasons covering from November till March, especially during November till January. The fungus, perhaps a new species belonging to the *Olpidiopsis* of Archymycetes, is parasitic on the living individual cell of, not only the mature frond, young sprout, but also the germling and free carpo-, mono-spore and vegetative cell. In the case of germling of carpo-spore, the fungus attacked both the original spore-cell and the filament of the filamentous-germling developed on the glass slide, while in the *Conchocelis*-germling on the bivalva shell it did not attack the filament penetrated into the shell.

The fungus grows intracellularly in the cell of the *Porphyra*, and kills the host-cell in slow space. It is colorless, globular or ovoid with 7.5～13μ (mostly 9.5～10μ) in size, contains many minute globules. In mature it protrudes out a small tube outside the cell-wall, and produce 4～16 spores within the cell. The spore is also colorless, reniform or irregular shaped, and has 2 long similar flagella on the ventral side. Escaping from the mother cell, it swims about rather quickly, without any phototactic movement, and then becomes rest losing the flagella, spheric with 3.0～5.0μ (mostly 4.5μ) in size. The spore infests into a new host immediately after attaching it.

The present fungus, *Olpidiopsis* n. sp., was seen only on the *Porphyra*, therefore 'the chytrid disease of *Porphyra*' was given to this parasitism. We could not correctly estimate the extent of damage of the disease, but it seemed to be rather smaller for the mature fronds while rather severe for the young sprouts and free spores.

In addition, it seemed most probable that late Prof. Yendo (1919) had took this Chytridean parasite for the male and female swarming gametes of the *Porphyra*.

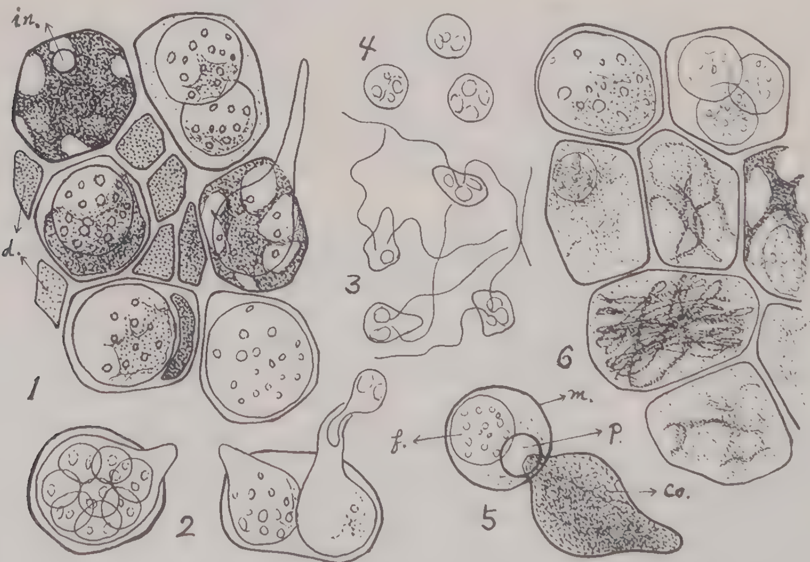
養殖ノリの葉体内に見られる寄生生物としては従来赤腐れ病原菌の *Phthium* sp.[2], 穴グサレ病葉にみられる *Labyrinthula* sp.[12], また緑藻の *Chlorochytrium* sp.[16] 等が報ぜられている。なおかつて遠藤[17]が北海道産の *Porphyra* の生活史において“果胞子からの発芽体が雌雄の配偶子と思われる動胞子を放出した”と報じたのに対し岡村等[11]は“これは壺状菌の寄生 chytridean parasites によく似ている”と反論したが，寄生菌を実証した訳ではなかつた。

筆者はこれまでノリ業体および微小幼芽体内に寄生する一種の壺状菌 Chytrid の存在を報じ[2]，その病原性についても少しく論じた[4,5]。その後も注意して研究を続けてきたがまだ不明な点が多い。しかし一応の見当がつけられるようになり新知見も加かえることができたので，ここに第一報を報じ，大方の御批判を仰ぎたい。

I. 壺状菌の所在，その形態，分布および分類： 肉眼での外観は健全体とほとんど変らぬノリ体に，低倍率の顕微鏡観察で往々，白点状に少しく輝やくように見えてやや丸味をおびる退化細胞が点在するのが見ら

* 東大農学部 (Fac. Agr., the Univ. Tokyo, Tokyo, Japan).

れる (Pl. 1, Fig. 7)。このような白点は健全細胞群中に現われることもあるが，多くの場合“白グサレ病”兆を呈する死細胞群に混じつており，また“赤グサレ病”班中にも見られる (Pl. 1, Fig. 8, 9, 10)。なお葉体上では縁辺近くに多く見られるが，ここだけに限られる訳ではなく，根部近くや体中央部位にも見られる。さらに高倍率にして白化細胞を見ると，ノリ細胞の色素体は全く消失しているか，あるいは著るしく変形，萎縮し，ボカしたような一様の淡紅色か淡鮮緑色に変つて一隅におしやられ，細胞内は無色の球状体に占拠されている。球体中には極微小の顆粒が多数存在し，また大部分のノリ色素体の残滓は球体外にあるが，一部は球体内に取り入れられている場合もある (Textfig. 1)。これは一種の壷状菌の寄生によるノリ細胞の変化であるが，注意して観察しないと見落されがちである。健全細胞への菌の侵入初期には一隅に微小の白球が現われるだけで，ノリ細胞にはほとんど変化が見られないが (Textfig. 1, in.) 菌体の成長とともに色素体が次第に侵触されて変色，変形するので細胞内は一様にボカされた紫紅色物に充たされるようになり，更に菌体周囲が明瞭に観察されるようになるとともに退色して無色化するようになる (Textfig. 1, 2, 3)。菌の侵入から成体までの成長速度は，外界条件にもよるだろうが，早い時には 1〜2 日内で完了することもあつた。菌体は1個のノリ細胞内を侵すだけで，菌糸を出してさらに近隣の細胞を侵すようなことはない。また1個のノリ細胞内には1個の菌体がみられる時が多いが 2〜3 個見られることもあり，特にノリ終期近い頃の栄養不良ぎみのノリ体上では 2〜3 個の場合が多かつた (Pl. 1, Fig. 10, 11)。壷状菌寄生はノリの栄養細胞内だけでなくまれには雌母細胞，未熟果胞子内にもみられるが，雄部ではみられなかつた。なお成葉体上だけでなく幼芽，幼体上でも見られ (Pl. 1, Fig. 15)，その時期は 10 月中旬頃から 12 月初旬頃まで殊に“芽イタミ，小芽イタミ”の害がひどいといわれた時には多かつたが，この期間だけに限られる訳ではなく



Textfigures 1〜6. Various stages of *Olpidiopsis* parasited on *Porphyra*.
1: Various growing stages. in.; initial point of infesting into healthy cell of *Porphyra*, d.; dead cells of *Porphyra* by another disease (white wasting disease). 2: Mate *Olpidiopsis*-bodies producing spores and a dischargetube. 3: Swarming spores. 4: Resting spores. 5: A parasite into a carpospore-germling on bivalva-shell (*Conchocelis*-germling), f.; fungal body, m.; cell-membrane of original carpospore, p.; a pore through which the contents of carpospore escaped and pentrated into shell, Co.; initial body of *Conchocelis*-filament in shell. 6: Various stages of disintegration and thread-formation in fungal-content. which were observed in rare cases. × ca. 1600

1〜3 月頃までも見られた (東京湾内ノリ場での観察)。

壺状菌寄生は広く岩手県宮古湾，山田湾，宮城県気仙沼湾，松島湾，塩釜湾，福島県松川浦，また東京湾，伊勢湾，三河湾内等多くのノリ場産のノリ体上に見られたが，殊に東北地方沿岸の諸漁場産やこれらの漁場でタネ取りした移殖ノリ体にはよく見られた。東京湾内では以前にも見られたが (1935 年 12 月に初めて筆者が発見した)，近年はより多くなり分布も広がつたように思える。瀬戸内海や有明海沿岸の諸漁場については調査不充分で分布は不明である。これまでの調査によると本菌は東京以北の沿岸に広く，多く生育するように推定されるが，筆者は 1952 年 7 月と 8 月の下旬に北海道有珠湾内の竹ヒビ上に生育するスサビノリの夏ノリ体上と湾外の岩上に生育した葉体上でもこれを見たことをここで特に付記しておきたい。

その出現期間も長く，ノリ幼体が出初める頃から成葉体の衰退期までの全期間にわたるといつても良いほどであるが，多く見られるのは 11 月初旬頃から 1 月末頃までで，出現の多少は年によつて変動がみられた。

寄生は *Porphyra* 属の物にだけ見られ，近縁の *Bangia* でも見られないし，またノリと同時に，混在して生育しているアオノリ類，アオサ，ヒトエグサ，ヒビミドロ等の緑藻やカヤモノリ，セイヨウハバノリ等の褐藻類の雑藻の体内にはみられなかつた。そして天然体でみられないばかりでなく，実験室内での伝染実験においても不感染であつた。

壺状菌寄生は上記の天然体上ばかりでなく，実験室内での培養によつてノリ母体から放出された単一遊離細胞の単胞子，分離細胞，またそれ等から生じた発芽体上でも見られ (Pl. 1, Fig. 12, 13)， しかも葉体上における細胞よりも好んでかかる遊離状態の物を犯すように思われる位多かつた。果胞子ではガラス板上等で放出させた時と，二枚介の殼片上等に放出させた時とでは発芽体の形状が違うことは周知の通りであるが菌の寄生の様相にも少し相違がみられた。すなわちガラス板上でできる糸状発芽体では，原胞子部にも発芽糸の細胞にも菌寄生が見られるが (Pl. 1, Fig. 13)，介殼片上では殼内に穿入している *Conchocelis* 体糸には菌寄生は見られず，寄生は殼外にある部分だけに止まる。介殼上の果胞子で殼内穿入前に菌に犯された物では，菌体の成長が速くて果胞子内容の大半以上が侵蝕された物は殼内穿入能力を失うが，菌の侵蝕が半分以下の物は穿入能力を持ち，正常な *Conchocelis* 形成がみられた (Textfig. 5)。

上記のような種々の状態でみられる菌体はいつも大体同形で球状または往々やや角のある卵形を呈し，大きさは 1 個のノリ細胞中の寄生体数によつても違うが直径 7.5〜13.0μ 位の範囲により 9.5〜10μ 位のが多い。薄い外膜を持ち，体内に多数の微小顆粒を有し，無色であるが往々，ノリ色素体の残滓と思われる，ボカしたよう淡紫紅色あるいは淡鮮緑色の着色体を取り入れているか全面が一様の淡黄色に染まつたようになつている。成熟すると菌体の一隅に，寄生体外にまで伸びる短小の突出管を作り，また内容が分割して 4〜16 個の胞子を作る (Textfig. 2)。胞子は母体内にある時でも動き廻るがやがて突出管を通つて個々に母体外に脱出し，直ちに海水中を泳ぎ廻る (Textfig. 3)。胞子は腎臓形あるいは球塊状等形状不定で，腹生する 2 本の長い，等長の鞭毛を持ち，また体中には 3〜4 個の微小顆粒を有する。游泳は方向性をもたず，明らかな趨光性も見られず，しばらく (5〜30 分位) 泳ぎ廻つた後に，鞭毛を失い静止して，球状になる (Textfig. 3, 4, Pl. 1, Fig. 12)。静止胞子の直径は 3〜5μ 位で 4.5μ 位のが多かつた。游泳中または静止直後にノリ細胞に出あう機会のあつた胞子は直ちにこれに接着して，穿孔，寄生した。未だこれら胞子の接合状態にあるもの，または接合子を見ることができなかつた。寄主に出あうことのできなかつた胞子は大部分は死滅するようであつたが，休眠して生残り得るのがあるか否かについては不詳。なおかかる胞子を作らないで菌体がそのまま，少し厚くなつた外膜を有する休眠胞子 dormant spore になり，寄主体の腐敗消失後も生残り，越夏するのも見られた。この現象はノリ葉体上のでも観察されたが，特に遊離胞子またそれ等の発芽体上に寄生したもので容易に観察することができた (Pl. 1, Fig. 14)。休眠胞子がいかにして次期の寄生源になるかについては未だ不明。

稀な現象ではあつたが，空虚になつたノリ細胞内で菌体の外膜と内容が崩壊して一旦泡沫状にとけた後にその中からやがて絡みあう 2〜3 本の糸状物が形成され，次第にその数が増えるとともに絡みあいも錯雑になつて，寄主細胞内を充たすようになる (Textfig. 6, th., Pl. 1, Fig. 11) 過程がみられた。そしてこの糸状

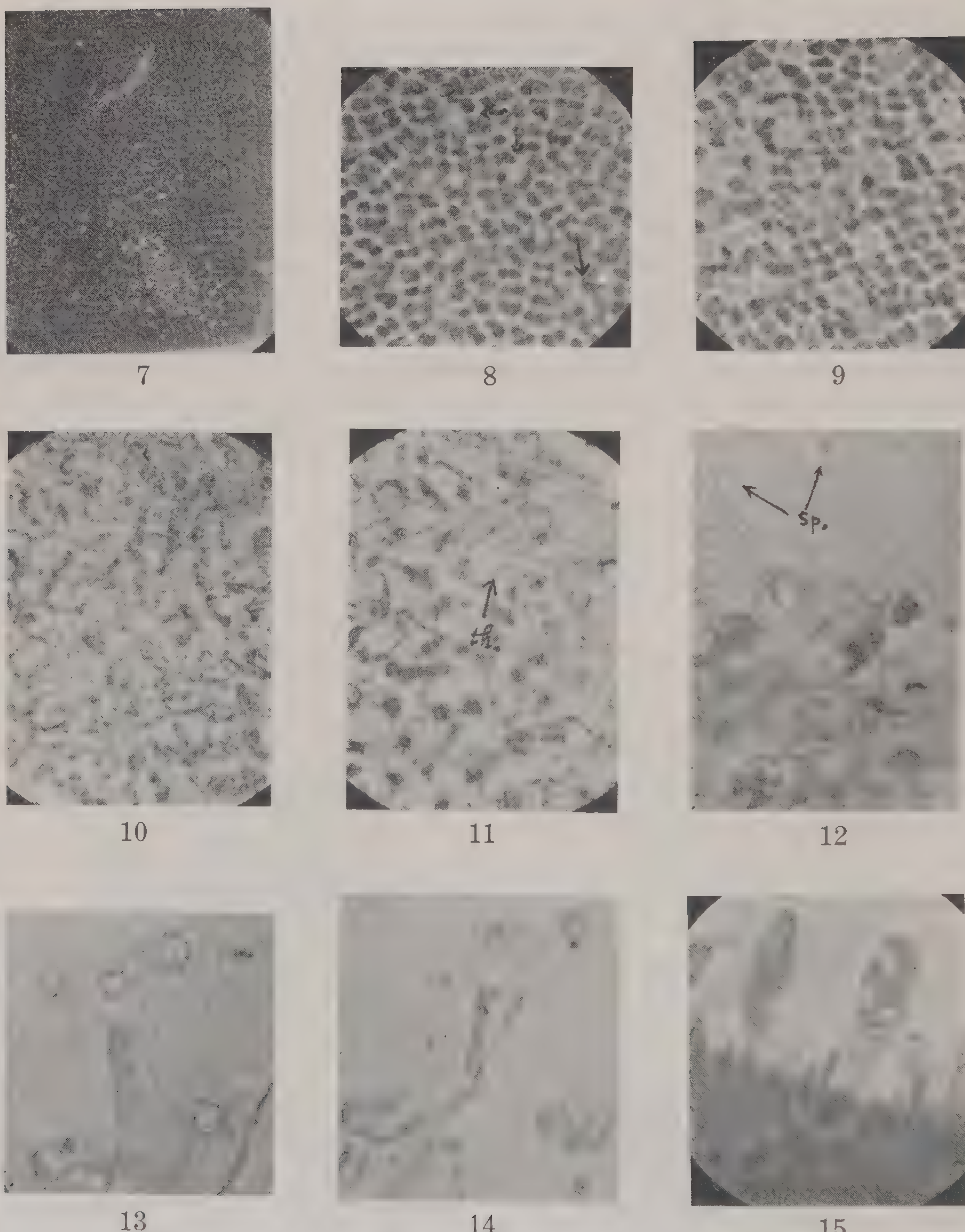


Plate 1. Figs. 7~15. Photographs of *Olpidiopsis* in various stages.

7: Surface view of infested part of *Porphyra*-frond. white spots show the fungal parasite. 8: Early stage of infestation, arrows show the cells infested. 9, 10: Progressed stage of infestation. in lower part of fig. 10 hyphas of *Pyhtium*, another fungus causing 'red wasting disease' are also observed. 11: Progressed stage in disintegration and thread-formation. th.; threads. 12: *Olpidiopsis* parasited on free carpo spores sp; resting spores of fungus. 13: Parasites on filamentous germlings of carpospores on glass-slide, mostly attack original carpospore-cells. 14: Dormant stage of fungus, after decay of host-cells. 15: Parasite on young sprouts of *Porphyra*.

物は微小顆粒 (0.5μ 位) が念珠状につながつた状態になつていた。このような特異現象は栄養不良状態にあるノリ体上 (1959 年 3 月 4 日松川浦産) でのみ見られたものであるが，糸状物がその後どのような行動をとるかは追究することができなかつた。確に壺状菌の生活史上何らかの役割を果しているのか，何らかの異物を見誤つたものであるか等については今後再検討したい。

この壺状菌は活物寄生性のもので，未だ人工培地上での純粋分離に成功しておらぬ。上述の記述はすべて寄主内にある物での観察に基づくものであり，しかもまだ不明な点もある。菌体と游走胞子の形状等から判断して古生菌綱 Archymycetes 中の *Olpidiopsis* 属中のもので，新種としても大過なかろうと思われるが[7,18,19]，種名は後日に決定したい。

II. 壺状菌の病原性，被害度についての考察: 上記のように本菌はノリの個々細胞内に寄生するだけで，同一菌体が一時にノリ体の相当の範囲に害を与えるということはなく，またノリ細胞に侵入しても，活物寄生性であるから，直ぐに寄主たる細胞を死に致らしめる訳でもない。寄生菌体が多い時でも肉眼的には病変を見付けることが難かしい等のこともあつて，従来その存在も見落されがちであつたし，その与える被害度についても知られていない。それにしても侵蝕されたノリ細胞は終りには死ぬから，構成細胞数の少ない幼芽や発芽体では致命的な打撃をうけるし，細胞数のきわめて多い成葉体や幼体では生産に影響するような大打撃はないにしても生育阻害や品質低下等の被害は起るはずである。成葉体においては往々“白グサレ”病兆を呈する病変細胞と混在して壺状菌寄生が見られる (Pl. 1, Fig. 9)。しかも病変細胞の出現に先んじて寄生が起り，これが付近の健全細胞に白グサレ病兆を誘発していると解されるような経過を追究できる場合もあつたが，白グサレ病変が寄生と関係なく起ることも見られた。白グサレ病とは必らずしも直接の関連はないかも知れないが，元来“白グサレ病”は筆者が命名し，病兆，病因等についても記述したけれども[2],かつて述べたような単一の病気ではないかもしれないし，また違つた原因から“白グサレ”病兆と全く似た病変が起るのかもしれない[8,10]。詳細な検討は他日報告したい。

また“芽イタミ”または“小芽イタミ”と呼ばれる病害と壺状菌寄生との関係は前述のように菌寄生はこの病害がひどいといわれる時にノリ幼芽体上によく見られる。しかし死ぬ幼芽体のすべてに見られる訳ではない。この病害も最初に気付いたのは筆者の研究室にいた野沢洽治 (現鹿児島大水産学部在勤)，山崎浩 (現静岡水試伊豆分場勤務) 等で[3,15]，1952 年と 53 年の秋東京都下および千葉県下の諸漁場における被害幼芽での研究によつてそれまでに知られていた赤，白のクサレ等とは全然違う病害たることを確認して命名された。主原因は天候異常，海況異変にあると考えられており[1,9,13,15]，筆者も同一見解をとる[4,5]。しかし壺状菌寄生も被害の激化に何らかの役割を持つて助演しているものと思える。被害発生時やその後のノリ幼体は“鈎形”あるいは“鎌刄形”に畸形化した物ヨヂレル物が多いといわれるのも菌寄生と関係深いと思えるが，今後詳細にしたい。

本菌が母体から放出され果胞子等をよく犯すことは前述の通りであるがこの現象は，最近盛んに行なわれているノリ人工採苗用の *Conchocelis* 作り特にいわゆる“果胞子ヅケ”に当つては注意すべきことであろう。果胞子の殻内穿入に要する時日は外界条件殊に光と温度とに影響されるが，穿入に日数がかかるとその間に本菌の害をうけて *Conchocelis* 形成数の減少が見られたのに対し，明処において夜間も電灯照射を追加する長日操作を行ない温度も 10°C 以上に保つと 2〜3 日で果胞子穿入が完了して菌寄生の害をうけなかつた (未発表)。本菌は出現期間が長いので，東京湾内産ノリ体からの果胞子ヅケ実験では 12 月頃から 3 月末頃まで寄生が見られ，そのために果胞子穿入が 1 週間以上かかつた場合就中暗処においた場合には存在する果胞子の大半が死滅した例が多かつた。果胞子ヅケ時の取扱いには本菌の存在を考慮に入れる必要があろう。*Conchocelis* 培養中において起る病害も種々報ぜられているが[6]，まだ本菌と関係あるものは見当らない。このことは果胞子内における菌の侵触が軽微の時は犯されていない胞子内容だけが殻内に穿入して正常な *Conchocelis* を作り，菌体は殻外に取り残されるのがよく見られたことから推測しても首肯できる。しかしまれにみられた現象ではあるが成葉内で起つたような寄生菌体の崩壊，解体と糸状物形成が，果胞子内でも起るとしたら *Conchocelis* 体えの移行も可能であろうから発病も考えられよう。検討を要することと思えるので今後細慎の追究をしたい。

これらのことを考慮に入れて成葉，幼葉，遊離胞子等の区別をせずに壺状菌の寄生がみられるすべての場合に一応“ノリの壺状菌病” Chytrid disease of *Porphyra* と名づけたい。

なお一言加えたいことは，果胞子がガラス板上で作る糸状発芽体に本菌の寄生が起ると (Pl. 1, Fig. 13,

14), かつて遠藤[17]が図示し記載しているのによく似たものになり，成熟菌体から放出される游走胞子やその脱出状況も (Textfig. 2, 3) 全く彼の見たことと一致する。なお彼の使つた材料 ***P. leucosticta*** var. ***suborbiculata*** は北海道釧路産であり研究室も彼の地であつたこと，本菌が東北沿岸に広く分布し北海道では夏季でも見られたこと等を考え合わせると，遠藤が見たのは，岡村等[11]の推測の通り，本菌の寄生およびその游走胞子を見誤つたものと考えられる。さらに遠藤[17]がついで発表したセイヨウハバノリの游走子発芽体上にも壺状菌寄生と思われる図 (彼の Fig. 9, 10, 12) を掲示している。筆者のこれまでの観察では ***Porphyra*** 以外には，天然体でも室内培養でもこの菌の寄生を見つけ得なかつたが，北海道ではすでに褐藻クロガシラの一種と緑藻モツレグサ種の体上に *Olpidium* または *Olpidiopsis* の寄生が知られている[14]からノリを犯す物とは別種なのか，環境条件が良ければ本菌でも ***Porphyra*** 以外の物をも犯し得るのか等，今後検討すべき点であると思える。

擱筆に当り研究中御鞭撻を賜わつた恩師 三宅驥一，草野俊助の両先生に深謝する。また研究中助力下さつた野沢洽治，同ユリ子，山崎浩，秋野喜一の 4 君に謝意を表するとともに，研究費を援助下さつた文部省研究助成課に対し感謝の意を表する。

摘　　要

1) 養殖ノリ成葉，幼芽体，また游離の胞子，単一細胞中に寄生する古生菌綱中の *Olpidiopsis* n. sp. が見られた。この寄生をノリの壺状菌病 Chytrid disease と新称する。本州中南部以北の主要ノリ場で広く長い期間にわたり本菌寄生は見られるが，殊に東北沿岸には多い。東京湾内のノリ場ではほとんど全ノリ期間にわたつて出現するが特に 11 月初旬頃から 1 月末頃まで多く見られた。

2) 本菌は 2 本の鞭毛を持つ游走胞子を出して繁殖するが活物寄生性で，一菌体はノリの一個細胞を犯すだけである。ノリ成葉の場合は壺状菌病による被害は少ないが，幼芽や発芽体，遊離の胞子等は致命的被害をうけることが多い。したがつていわゆる "芽イタミ，小芽イタミ" の際は被害激化に何らかの役割を果たしていると思えるし，また "人工採苗用の *Conchocelis* 作り" に際しては介殼内穿入前の果胞子の大量を殺すこともあり得る。

3) 遠藤は "果胞子からの発芽体から運動性の雌雄配偶子を出す" とかつて報じたが，これは恐らく本菌の游走胞子を誤解したものと思われる。

文　　献

1) 赤坂義民： 水産増殖，**4**, 41 (1956).
2) 新崎盛敏： 本誌，**13**, 74 (1948).
3) ―――： 文部省科試研報 (農)，昭 27, 168 (1953).
4) ―――： 植物防疫，**10**, 243 (1956).
5) ―――： 文部省総研報 (農)，昭 30度，(主任 久保伊津男)，123 (1956).
6) ―――・野沢洽治・野沢ユリ子： アサクサノリ糸状体の病害 (プリント)，(1959).
7) 小林義雄・大久保真理子： 科学博物館研報，**33**, 54 (1953)，(英文).
8) 野沢洽治： 水産増殖，**1**, 9 (1954).
9) ―――： 同上誌，**4**, 65 (1957).
10) ―――・野沢ユリ子： 本誌，**20**, 878 (1955).
11) 岡村金太郎・恩田経介・東 道太郎： 植雑，**34**, 131 (1920)，(英文).
12) 須藤俊造・梅林 脩： 本誌，**19**, 1176 (1954).
13) 田村静夫： 水産増殖，**4**, 44 (1956).
14) 時田 郇： 植雑，**61**, 113 (1958).
15) 山崎 浩・吉井戸良雄・伊藤 茂： 最近の都下における海苔不作原因およびその対策 (プリント)，(1956).
16) 遠藤吉三郎： 海産植物学，p. 519 (1911).
17) 遠藤吉三郎： 植雑，**33**, 73, 171 (1919)，(英文).
18) JOHNSON, T. W. JR. and S. P. MEYERS: *Bull. Mar. Sci. Gulf and Caribbean* **7**, 330 (1957).
19) SPARROW, F. K. JR.: Aquatic Phycomycetes. (1943).

THE RELATION BETWEEN THE CRYSTALLINE STRUCTURE OF THE CULTURED PEARLS AND THE ELONGATION OF THE TRANSPLANTED MANTLE TISSUE IN THE PROCESS OF PEARL-SAC FORMATION*

Kōji WADA**

Received Jan. 19, 1960

The arrangement and the growth of calcium carbonate crystals in shells and pearls produced from the Japanese pearl oyster, *Pinctada martensii* (DUNKER), are ruled by the secreting activity of the epithelial tissue, which is varied with the different vitalities of individual animals and the seasonal changes of environments[1]. On the other hand, many workers have studied for shell and pearl structures on the viewpoint of crystallography and it is already known that the orthorhombic *c* axis of the aragonite crystals is nearly in parallel to the direction perpendicular to the surface of the shell and pearl. But our knowledge about the crystalline structure of the pearl is insufficient for understanding the crystal growth in the process of the pearl formation. So the author attempted crystallographical studies on the nacreous layer pearl in the first half of this investigation and recognized that their orthorhombic *b* axes of small crystals are also arranged regularly as that of crystals in the nacre of the Japanese pearl oyster[2].

In the pearl culture of *Pinctada martensii*, the epithelial tissue of the mantle piece inserted into the gonad of the pearl oyster with calcium nucleus elongates covering the whole surface of the inserted nucleus, and finally, develops pearl-sac epithelium in a few days after transplantation during the period from summer to early fall. Then the cultured pearls are produced by the secretive faculty of the epithelial cells of pearl-sac. In the process of pearl formation, when calcium carbonate concentration reaches in supersaturation the deposition of lime salt occurs there. At first, small rounded crystals deposited on the organic membrane increase in size, come in contact with one another, and develop into a crystal lamella. The edges of growing crystal lamellae emerge on the pearl surface, and exhibit the different growth patterns. However, individual crystals grow independently each other, but the arrangement of crystals in the nacre seems to be closely related with the orientation of the orthorhombic *b* axis of aragonite in the under layer. Accordingly, the crystal arrangement must be determined by the certain element at the first step in the formation of the layer. By the results obtained from the latter half of this experiments, it was established that the arrangement of the orthorhombic *b* axis of aragonite crystals in the nacreous layer pearls is governed by the behavior and the elongation of the grafted mantle epithelium in the early stage of pearl-sac and pearl formations.

---

* Contribution No. 46 from National Pearl Res. Lab.

** National Pearl Res. Lab. (和田浩爾, 国立真珠研究所)

Materials and Methods

The materials in this study were the nacreous layer pearls cultured from the Japanese pearl oyster, *Pinctada martensii* (DUNKER). The experiments were attempted from June to August in 1959, for the purpose of investigating the element which influence the arrangement of aragonite crystals in the cultured pearls. Namely, a piece of the mantle tissue, its dimensions being about 1×2 mm, was placed between two pieces of cover glass about 2×3 mm in size, and then inserted into the adductor muscle of another pearl oyster. At 2, 4, 6 and 10 days after operation, the cover glass was took out from the adductor muscle of shells, and the elongation and the behavior of the epithelium of the transplanted mantle pieces were observed directly with the optical microscope. Further, after cultivation for 1 or 2 months, the nacreous layer formed was teared off from a glass face and was polished up to thin slices parallel to its surface of the cultured pearls described above. Under the conoscope, these preparations were investigated for the arrangement of the crystallographic axis, which was discussed in connection with the behavior and the extension of the grafted mantle epithelium.

Observations

When we observe thin sections parallel to the surface of spherical pearls under the conoscope we find the directions image of biaxial crystals. The image is consisted of black hyperbolae and colored lemniscate rings, by which the orientation of the crystal axes is determined. Then the arrangement of crystallographic axes was investigated for several fragments of the spherical pearl, and shown diagrammatically in Fig. 1, A. It is distinct from this diagram that the aragonite crystals built up the nacreous layer pearls have the orthorhombic *c* axis arranged perpendi-

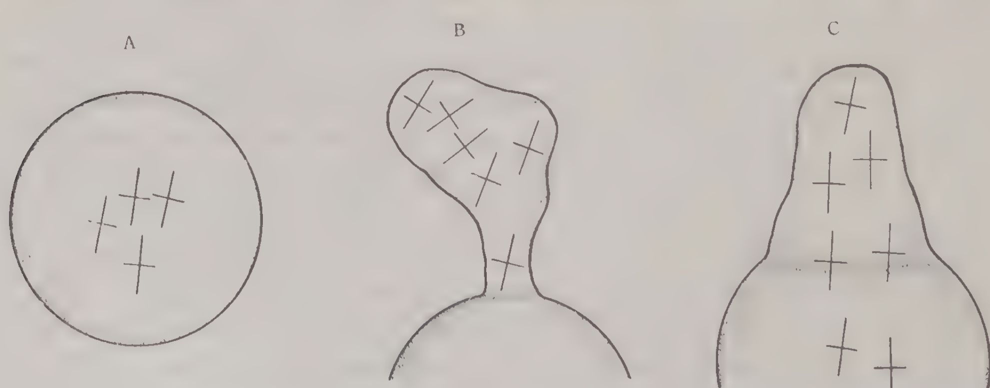


Fig. 1. Diagrams illustrating the micro-crystal arrangement of aragonite on the surface of the cultured pearls. The longer straight line of each cross indicates the orthorhombic *b* axis of micro-crystals. A: the part of a spherical pearl. B and C: the projections of baroque pearls.

cularly to the pearl surface, and at the same time their orthorhombic *b* axes orient regularly to the certain direction horizontal to the surface of pearls. In this case, they have never shown the radial aggregation round some portion of pearl surface.

Some limited part of the pearls comes very often to extrude as tubercular process with irregular shape at the stages of pearl formation. The orthorhombic *b* axis of aragonite crystals in such tuber arranges nearly in parallel to or at small angle of inclination to the direction elongated from the bottom to the top of the projection (Fig. 1, B and C). In other words, the arrangement of their orthorhombic *b* axes seems to coincide with the growth direction of the projection.

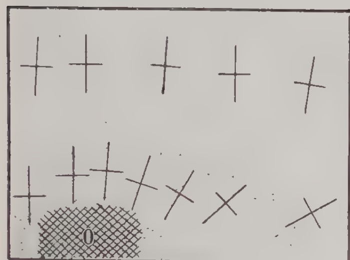


Fig. 2. Schema showing the arrangement of the orthorhombic *b* axis of crystals in the nacre formed on a glass, in which the point O is the part of the grafted mantle piece, and prismatic substances are found in the dotted area.

Besides the above experiments, the author has examined the crystalline structure of the nacre, which is formed on the face of the inserted cover glass by the same way of the cultured pearl formation, and the schema is illustrated in Fig. 2. In the figure, the point O is the part on which the transplanted mantle epithelium seems to be adhered, and moreover, the deposition of organic matters is found there. The prismatic substances deposit in the dotted area, and these size is smaller near O. The orientation of the orthorhombic *b* axes of minute aragonite crystals in the nacre is almost parallel to the direction running from O to the another side, but the most part of their arrangement will not exhibit the radial pattern around O. These facts correspond with the results obtained for the nacreous layer pearls.

The behavior and the multiplication of the grafted mantle tissue during the process of pearl-sac formation after transplantation will be observed in the following. The mantle of the pearl oyster is a connective tissue membrane lined by a layer of epithelial cells. The mantle epithelium of the shell and the free inner sides is called the outer and the inner epithelium, respectively. Two muscular coats run under the epithelium; the one being bands of transversal fiber and the other bands of longitudinal fiber[3] (Fig. 3). The fundamental studies[4),5)] for the pearl-sac formation have shown that the outer epithelium of the transplanted mantle itself grows larger through cell division and begins amoeboid movements, thus forms a pearl-sac completely enclosing contact with the inserted matter, and while the inner epithelium degenerates and disappears. Fig. 3 shows the transformed mantle piece of 6 days after operation, mineral substances are deposited already here and there on the surface of the glass inserted, and the epithelium seems to completely cover the glass face. It is also possible to recognize elongated fibrous cells in the edges of the grafted mantle piece, as shown in Fig. 3. The epithelial cells of the mantle tissue must tend to enlarge strongly toward a certain direction in the early stage of the pearl-sac formation, and

the elongation of the fibrous cells often coincides with the major axis of longitudinal muscular fiber. But the behavior of the epithelium is considered to be different with the condition of the cutting face of a mantle piece and with the mode of the grafted tissue contacted with foreign matters from the observations of several transplanted mantle. Furthermore, a numerous number of blood corpuscles aggregates around and in the introduced tissue (Fig. 3).

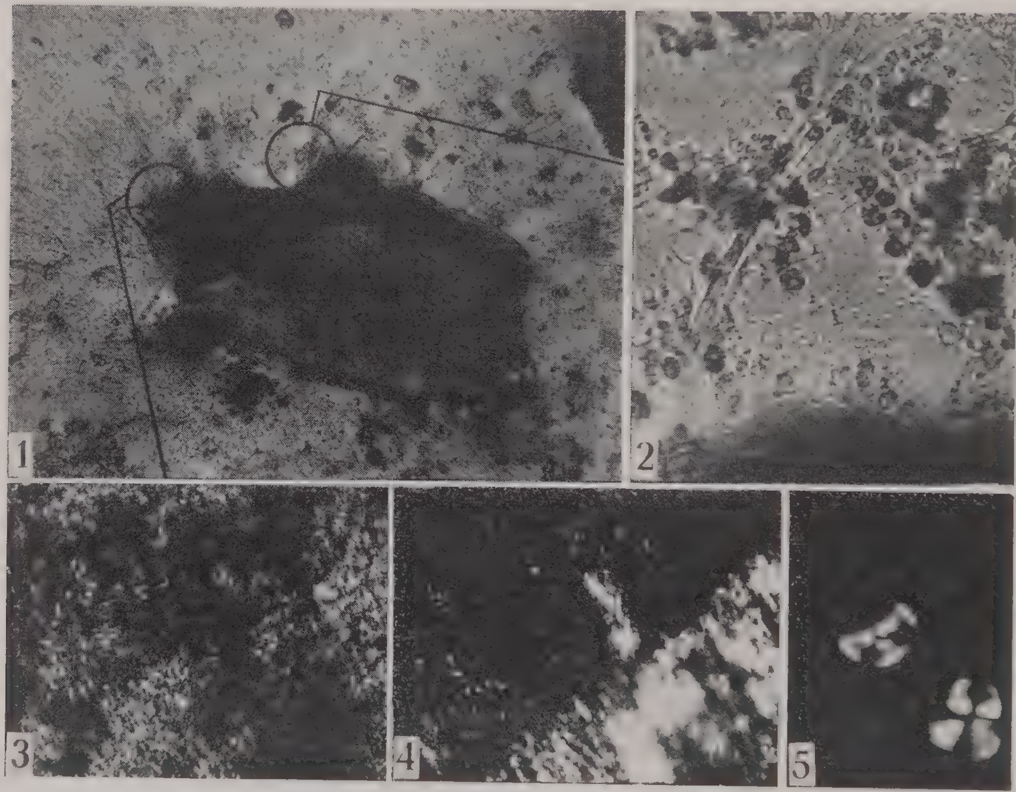


Fig. 3. The living mantle tissue at 6 days after transplantation, 1: the figure of the transformed mantle piece. ×30. 2: the elongated fibrous cells. ×250. 3: the edge of the grafted mantle. ×100. 4: the same part with (3) under cross nicols. ×100. 5: mineral substances under cross nicols. ×1000.

Discussion

Shells and pearls of bivalved molluscs will be able to call a complex system of organic matrix and lime salt, and are formed by the secreting activity of the epithelial cells of mantle and pearl-sac. The mineralization of shells is effected under different circumstance which is produced with the variation of physiological and ecological conditions of individual animals. Therefore, the secreting activity of epithelial tissue influence strongly crystal growth and structure of shells.

According to the author's preceding papers ('58, '59)[2),6)], calcium carbonate crystals in the nacre of the shells arrange in the mosaic structure all having their orthorhombic

b axes parallel to the horizontal growth direction of the layer, which means that the arrangement of crystallines is influenced directly or indirectly by the elongation and the behavior of mantle membrane. In the pearl culture, the regenerated epithelium which is originated from a piece of the grafted mantle concerns with pearl formation, and is called " pearl-sac ". The nacreous layer pearl formed is consisted of the ordinary accumulation of aragonite crystals and organic membrane cementing between crystal laminae, however the orthorhombic *c* axis of crystals is perpendicular to a pearl surface. Moreover, their orthorhombic *b* axes arrange almost parallel to the certain direction; for example, in baroque pearls the orthorhombic *b* axis of crystals elongates from the root of the top of a projection.

It is obvious, from the results mentioned above, that the orthorhombic *b* axis of aragonite crystals in the nacre has been run nearly in parallel to the horizontal growth direction of the layer in the cultured pearl. In this case, the horizontal growth direction of the nacre seems to be in the agreement with the direction to which the epithelial cells of the grafted mantle piece enlarge powerfully through cell division. It may, therefore, be thought the elongation and the behavior of the mantle tissue is a main factor govering the arrangement of crystals.

Summary

The relation between the crystalline structure of the nacre and the behavior of the shell-forming tissue was studied for the culture pearls of *Pinctada martensii*. The results showed that the arrangement of growing crystals on the nacreous surface is governed by the behavior and the elongation of the grafted mantle epithelium.

The author expresses his sincere thanks to Director Katsuo TAKAYAMA of National Pearl Res. Lab. and Prof. Toshio SUDOU of Tokyo Univ. of Education for their kind directions and encouragements. Thanks are also due to Mr. H. NAKAHARA for his useful advices.

References

1) WADA, K.: *Bull. Natl. Pearl Res. Lab.*, **2**, 74–93 (1957).
2) ——— : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 422–427 (1958).
3) OJIMA, Y.: *Cytologia*, **17**, 138 (1952).
4) KAWAKAMI, I. K.: *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ.*, **1**, 84 87 (1952).
5) NAKAHARA, H. and MACHII, A.: *Bull. Natl. Pearl Res. Lab.*, **3**, 213–215 (1957).
6) WADA, K.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **25**, 342–345 (1959).

網地の引張強度

近 藤 仁

(1960 年 1 月 25 日受理)

BREAKING STRENGTH OF A NET.

Yasushi KONDO*

The objects of this experiment are to know the breaking strength of a net and to investigate the relation between the strength of netting thread and that of the net. Several kinds of nets shown in table 3 were used as test pieces and the breaking strength was observed by a pendulum type testing machine with chuck as fig. 2 in this experiment.

From this experiment, the following results were obtained;

1. A non-shortened net with chuck (*B*) as shown in fig. 2 is suitable for the investigation of breaking strength of the net.

2. The breaking strength of the net is in proportion to the number of its yarns (*S*) and to the number of meshes (*N*) at the side of the chuck, and has no relation to mesh size and length.

The experimental formula of breaking strength is as follow and its coefficient (*K*) is shown in table 3.

$$\sigma_B = KSN$$

緒　　言

網糸の重要な性質である引張破断強度についての測定は，広く一般に行なわれており，これに関する研究では，緩やかな引張に対する破断強度はもちろん，衝撃的引張による破断強度についても，数多く行なわれたので，網糸に関しては概ね明かとなつた。しかるに網地の引張破断強度についての研究は，今迄に報告されたものがない。

元来網地は多数の結節を作ることによつて，網糸を連結し編成したものであるから，強度的には単なる網糸とは異り，結節の存在による影響を当然考慮せねばならぬ。結節の影響を知るために，従来は[1),2)]二本の網糸で結節を作り，その脚を縦あるいは横方向に緩やかに引張つて，その抗張力を測定し，結節の有無による強度の比較をした。またこの結果から網地の抗張力を推定した。したがつて網糸の抗張力あるいは単独な結節の抗張力と網地の抗張力との間の関係は明らかでなかつた。

本研究では，網地抗張力試験法を検討するとともに，上記の関係を明らかにすることを目的とした。

実 験 方 法

実験に用いた網地の種類は，綿網地を主としアミラン網地，クレモナ網地も若干用いた。これらの網地は新しいものすなわち荷重履歴の無いものであり，また有結節の機械編みの網地であつた。

同一規格の網地ではおのおの 20～30 枚の試片について，抗張力と伸びを測定した。さらに 24 時間水に浸漬し，湿潤状態の網地についても同様の測定を行なつた。

網地が漁具の一部として用いられる場合，必ず何程かの縮結を入れて仕立てられ，さらに漁具を操作するとそれに近い縮結状態で引張力を受ける。ゆえに縮結を入れた状態で引張試験を行なうことが望ましい。し

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).



Fig. 1. Schematic diagram of tensile distribution on a shortening net when statical load acts its one side.

Note:
1. This diagram showns 1/4 of a test piece in area which is synmmetric on its each side.
2. Thickness of line is in proportion to tension.
3. Shortening; 30%

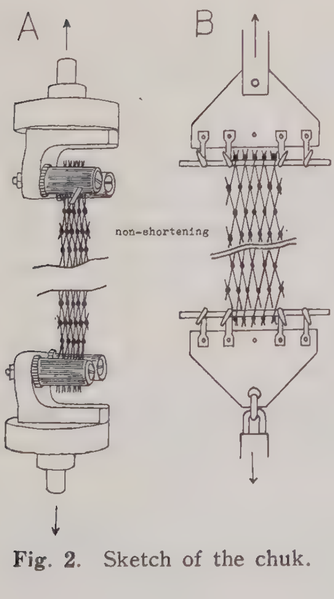


Fig. 2. Sketch of the chuk.

かしこのために測定装置および実験条件が複雑となるので，簡易に実験を行なうことができない。たとえば Fig. 1 のごとく単に試験網地の対応する二辺だけに縮結を入れて，引張ると中央部では網目がせばまり，張力を測定すると甚だしく不平均に分布している。このような状態は，漁具の一部をなしている網地における張力分布とかなり異なつたものである。このような不自然な状態のものよりは，無縮結状態の網地の抗張力の方が，基礎的資料としてより信頼できるし，また測定装置も簡単である。ゆえに本研究では，網地はすべて無縮結のものを実験の対象とした。

実験に用いた測定機は，網糸や布地の抗張力測定に普通用いられるショッパー型試験機で，その容量は 250k，引張速度は約 0.3m/min. のものである。網地の保持装置は Fig. 2 に示すごとく，織物試験用のもの (A) と，網地試験用として試作した (B) を用いた。

実験結果および考察

1. 網地の保持装置の影響

試験機に網地を取り付け保持する装置は Fig. 2 のごとく (A), (B) を用いて抗張力を測定し，両者の性能を比べたのが Table 1 である。

Table 1. Influence of chucks on breaking strength of a net.

Number of yarn	3/12	3/21	3/30	3/36
Chuck (A)	53 kg	79 kg	167 kg	188 kg
Chuck (B)	79 kg	122 kg	177 kg	198 kg

Note. Test piece; Cotton 20's, flat knot, 6 *fushi* (number of knot per 0.152 m on stretched net), (10×10) meshes.

織物用保持装置（A）を用いて実験した場合，ローラーで脚あるいは結節を均等に挾むことはその構造上できない。このためにある脚はズレ，他のある脚は強く締めつけられ，各脚に平均に引張力が作用しない。この結果，大部分の試験網地がいわゆるチャック切れとなり，抗張力は小さくあらわれる。

試作の網地保持装置（B）を用いて実験した場合，チャック切れと観察及び判定されるものはなく，280 枚の試験網地について破断個所を観察したところ，保持棒のつぎの結節で破断したものが 56% あつたが，保持棒に乗つている結節から破断することはなかつた。残りの 44% は前記以外の不特定の結節で破断した。且つどこで破断しても，抗張力に差異はなかつた。

さらにこの装置では，網目に通す保持棒の太さの影響が考えられるので，直径 5, 6, 7, 8 mm の鋼鉄棒を用いて実験したが，細い棒を用いた方が多少抗張力が大きい程度で，明確な影響は見

られなかつた。

かような結果から，曲らない程度の細い保持棒を用いた試作型の保持装置（B）を用いるのが適当である。したがつて次項以後の実験はすべて（B）を用いて実施した。

2. 網地の大きさとその強度

網地の縦（横）方向とは，その網地の結節の長軸方向（短軸方向）をいい，また掛目数とは，ここでは引張力が作用する側の辺にならんでいる網目の数とする。

掛目数と抗張力の関係を知るために，綿糸 20′s 6 本合の本目網地を用いて，長さ 10 目の数種の掛目数の試験網地を作り実験した結果を Fig. 3 に示す。この図から抗張力 σ_B は掛目数を N とすると $\sigma_B=K_1N$ であることがわかる。また網地の状態，すなわち乾，湿，縦方向，横方向えの引張に対する σ_B は，単独な結節について従来行なわれた試験結果と同じ傾向であつた。

つぎに網地の長さの影響を知るために，掛目を 10 目とし長さを種々変えて実験した結果，長さが変つても σ_B は変らないことを知つた。ただしこの場合，測定値の不同は短い網地では大きく，長い網地では小さい。このことは掛目数が変る場合でも同じであつて，試験網地の中にある総目数と σ_B の変化係数とは，実験した資料の範囲内では Fig. 4 のごとくであつた。

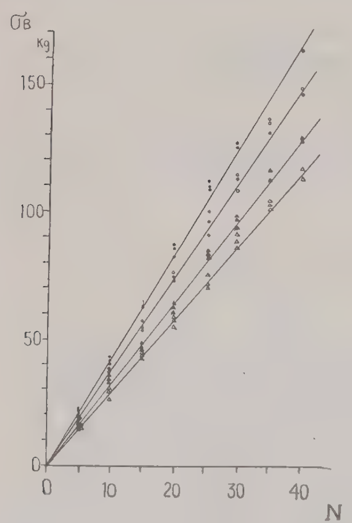


Fig. 3. Relation between breaking strength and number of meshes at the side of a chuck of the net.

Note:

1. Test piece; Cotton 20′s, 3/6, flat knot, 6～24 *fushi*, (10×*N*) meshes.
2. *fushi*; Number of knots per 0.152 m on the stretched net.
3. Mark;
   —●— When pulled in the direction of a knot, in wet.
   —○— When pulled in the direction of a knot, in dry.
   —▲— When pulled in the opposite direction of a knot, in wet.
   —△— When pulled in the opposite direction of a knot, in dry.

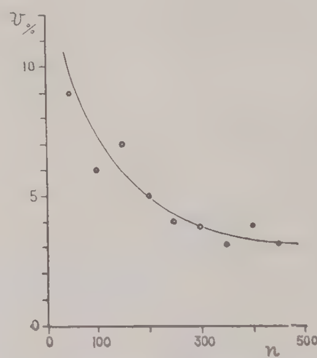


Fig. 4. Influence of total number of meshes (n) on coefficient of variation (v).

網地の目合の大きさによる影響を知るために，数種の異なつた目合の綿網地を用い，(10×10) 目の試験網地を作り実験したところ，編網技術等に起因すると思われる若干の差異は見られるが，何等規則的の変化はないので，目合の大きさによつて σ_B は変らないものと考えてよいであろう。

3. 網糸の太さと網地の強度

網糸の総単糸数と網地の抗張力の関係を明らかにするため，(10×10) 目の試験網地について実験した結果を Fig. 5 に示す。

網糸の抗張力 σ_B は，総単糸数を S とすると，一般に $\sigma_B=K_2S$ であるとされている[3]が，総単糸数の多い網糸では，計算値と実測値で若干差異があり，太くなる程実測値の方が小さく

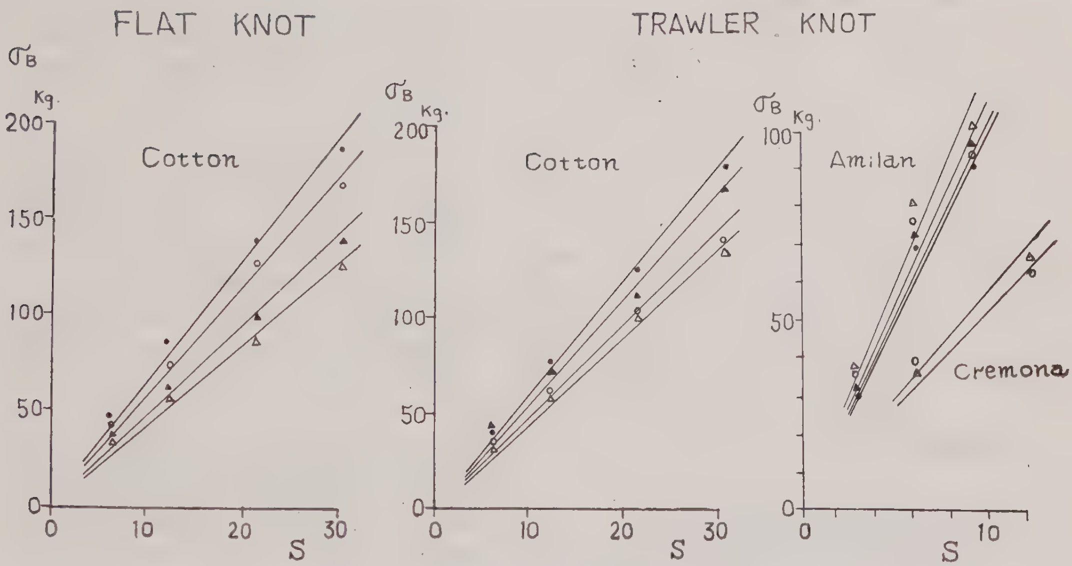


Fig. 5. Relation between breaking strength and number of yarns (S) of the net.
Note: 1. Test piece; (10×10) meshes.
2. Mark; Shown in Fig. 3.

なる。このことは網地の場合でも同じであつて，Fig. 5 においても細い糸と太い糸とでは必ずしも同一直線上になく，$\sigma_B = K_2S^a$ とするのが適当であろう。しかし漁網として最も多く使用される総単糸数 30 本合以下の網糸で編まれている網地では $\sigma_B = K_2S$ としても実用上大した不工合はないようである。

前項および本項より網地の抗張力は $\sigma_B = KSN$ であり，K は各種網糸材料により，また結節による強度減少度により変る常数であるとともに，編網，製網の技術によつても変るものである。本実験によつて得られた K は Table 2 のごとくである。

Table 2. Coefficient (K) of breaking strength of the net.

Net				Flat knot		Trawler knot	
Material	Number of yarn	Size of mesh	Condition	L	B	L	B
Cotton (20's)	3/6, 3/12, 3/21, 3/30, 3/36	6, 8, 15, 20, 24 *fushi*, 152 mm*	dry	0.58	0.43	0.50	0.47
			wet	0.64	0.48	0.61	0.56
Cremona (20's)	3/6, 3/12	10, 20 *fushi*, 152 mm*	dry	—	—	—	—
			wet	—	—	0.53	0.58
Amilan (210D)	3/3, 3/6, 3/9	20, 25.4, 50.8, 121 mm*	dry	—	—	1.11	1.19
			wet	—	—	1.04	1.07

Note, L; Pulled in the direction of a knot.
B; Pulled in the opposite direction of a knot.
*; Length of two bar.

4. 網地の伸度

網地の抗張力測定に付随して，網地の破断時の伸びを測定した結果を Table 3 に示す。

Table 3. Elongation of the cotton net.

Number of yarn \ Kinds of knot		Flat knot		Trawler knot	
		L %	B %	L %	B %
20's 3/6	dry	22	26	10	10
	wet	25	15	17	24
20's 3/12	dry	28	28	19	15
	wet	26	32	23	22
20's 3/21	dry	28	34	24	22
	wet	31	37	33	31
20's 3/30	dry	31	41	25	27
	wet	38	48	35	32
20's 3/36	dry	26	36	—	—
	wet	32	43	—	—

Note. L & B; Shown in table 2.

単独な結節を引張つた場合，結節からの網糸の送出量は，結節の種類の違いによる差異は小さいが，引張方向の違いの影響は大きく，縦引きの伸びは横引きのそれよりも大きい[4]。しかるに Table 3 に現われている傾向はこれとかなり異なつたものである。これはこの実験において網地を試験機にとりつける際，網地に一定の初張力を与えることなく，手加減で行なつたため，結節の開脚特性が影響したために生じた結果と思われる。したがつて，網地の伸びを測定する場合には，一定の初張力を網地に与えてから，伸びの測定を始めることが望ましい。

要　　約

網糸抗張力試験機のチャックを改造して，網地の抗張力試験を行ない，つぎのごとき結果を得た。

1) 網地抗張力測定には Fig. 2 (B) のごとき網地保持装置を用いるのが適当である。

2) 網地の抗張力 σ_B は，網糸の総単糸数を S，掛目数を N とすると $\sigma_B = KSN$ であり，結節の種類，方向，乾湿による影響は，単独な結節の場合と概ね同じ傾向であつた。

なお目合の大きさや網地の長さは，抗張力に直接影響をおよぼさない。

3) 網地の伸びは測定のしかたにより差異を生ずるので，網地の初張力を規定して測定することが望ましい。

文　　献

1) 田内森三郎： 水講試報，Vol. **26**, No. 1, (1931).
2) 本多勝司： 化繊便覧，丸善，東京 (1953), p. 526.
3) 長棟暉友： 最新漁撈学，厚生閣，東京，(1932), p. 25.
4) 近藤　仁： 1958 年度秋期大会講演 (新潟).

網地の応力分布—II. 衝撃荷重について

近藤 仁・鈴木 誠

(1960 年 2 月 4 日受理)

THE DISTRIBUTION OF STRESS ON A FISHING NET—II. ON THE IMPACT LOAD

Yasushi KONDO and Makoto SUZUKI*

As part of the study on the distribution of stress on a fishing net, the tension distribution on the net under impact loads were measured with the strain gauge.

The results obtained were as follows:

1) When impact load is vertically imposed on a knot of a net, the shape of tension distribution is as shown in Fig. 1 (A), and when impact load is imposed in a direction parallel to a net, it is as shown in Fig. 1 (B and C).

2) If the tension which appears on the leg line starting directly from the point loaded is denoted by T, the following equation will be held,

$$T/mv = K_t + K_a \exp\{-k(n-1)\}$$

where $K_t = t/mv$, $K_a = a/mv$; t is the tension still remained when it attenuates gradually till it approaches nearest to the constant value, a is the tension of the first leg minus t, k is the attenuation coefficient, mv is the impact load and n is the number of legs from the point loaded. In the present study, obtained coefficients K_t, K_a and k among sample nets of various kinds of fibers are shown in Table 2.

3) The value of tension becomes larger as a net is stretched more tightly.

I. 緒言

網糸の衝撃による破断仕事量に関する研究は，田内[1]，近藤[2]，清水[3]，本多[4]，永田等[5]によつて多く行われ，また網糸に衝撃を与えたときの網糸の張力に関する研究は近藤[6]によつて行われたが，これらはいずれも網糸材料の工学的性質を究明するに留まり，網地としての衝撃に対する性質を究明するに至らなかつた。著者は前報[7]において，網地に静荷重を作用させたばあい，材料および結節の種類によつて張力の分布が如何に相違するかについて報告したが，漁具を実際に操作するばあい，殊に操業が機械化するにつれて網地が衝撃的に引張られる機会が多くなるので，網地の衝撃に対する性質の一端を知る資料を得る目的で静荷重実験と関連して本実験を行つた。

II. 実験方法

供試網地，荷重の作用方向および作用点は前報と同様である。枠へ網地を張りつけるときの条件は，前報と同様にたるみを 10 cm 与えたものの他に網地が緊張しているばあいの影響をみるために，枠の外側の網目に鉄棒を通し，これに十数個の錘りを下げて，網地に一定の張力が平均にかかるようにしたものとの2種類とした。作用させた衝撃力は，2 kg の重錘を 10～40 cm の高さの範囲で落下させることによつて与えた。測定装置は近藤[6]が網糸について行つたときと同じもの，すなわち張力の検出装置は電気抵抗線歪計を，ま

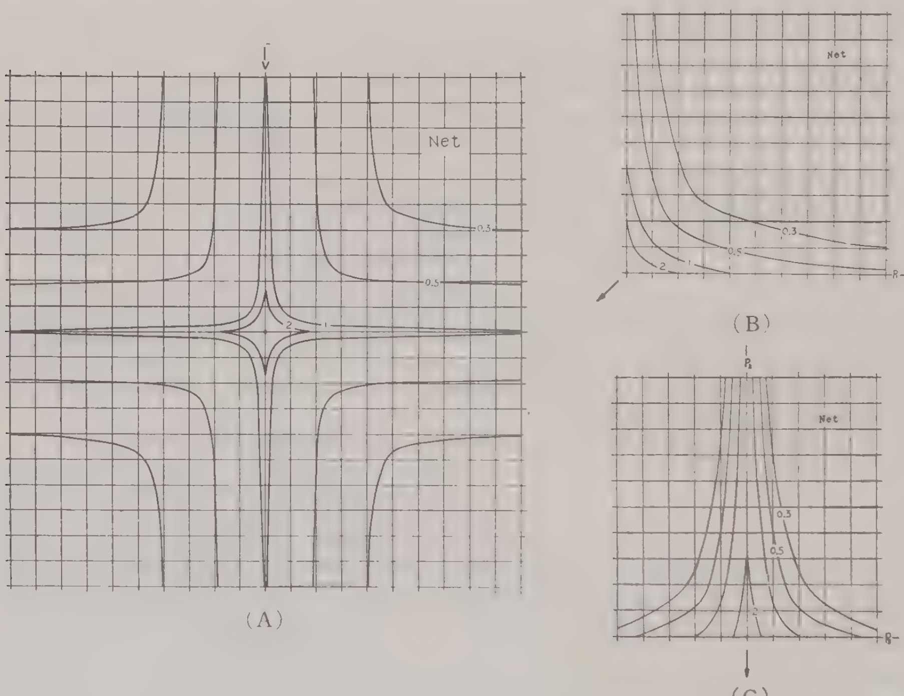
* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

た記録装置は電磁オッシログラフを用いた。

III. 実験結果および考察

1. 張力分布の型式

綿糸，20 番手，3/60，本目，4 寸目の網地について，中心結節でのたるみ 10 cm のばあいにおいて，網地展開面に対して垂直方向に衝撃力 3.96 kg·m/sec を与えたときの網地に分布する張力の等値線図は Fig. 1 (A) のごとくなる。また，網地展開平面に対し平行に，しかも衝撃の作用点に向う網糸線のなす夾角を2等分する方向に衝撃力 3.2 kg·m/sec を与えたばあいが Fig. 1 (B)，更に網地展開平面に平行に，しかも衝撃の作用点に向う網糸線の片方の網糸線と同方向に衝撃力 3.2 kg·m/sec を与えたばあいが Fig. 1 (C) である。これらの図から網地の1点に衝撃が作用するばあい，網地に分布する張力は，衝撃の方向が網地展開面に対して垂直，平行のいずれのばあいにおいても，作用点に向う網糸線（以後主脚線と称する）上に大きい張力が伝播し，他の網糸線上は比較的小さい張力が伝播することがわかる。これらの張力分布型式は，静



(A), When impact load ($mv = 3.96$ kg·m/sec) is vertically imposed on a knot of the net.
The net treated in this case is cotton 20's 3/60 mesh size 12.12 cm flat knot.

(B), When it ($mv = 3.20$ kg·m/sec) is imposed on a knot of the net in a direction parallel to the net.
The net is same as the above (A).
Curved lines: line of equal tension,
Numerals: values of tension (kg),
Mark ● : a knot on which impact load was imposed,
Arrow ⟶ : direction of loading,
Shortening of the net: 29.5%.

Fig. 1. The distribution of tension.

荷重の場合と同じ傾向であり，最も大きい張力が伝播する主脚線上の張力を実験式で示すと静荷重のばあいと同様

$$T = t + a \cdot e^{-k(n-1)} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

で表わされる。ここで t, a, k は前報と同意味のものである。

2. 衝撃の強さと伝播張力の関係

綿糸 20 番手，3/60，本目，4 寸目の網地について，たるみを 10cm 与えて張付け，衝撃力 mv の変化による影響を検べた結果，垂直衝撃力の大きさと t, a, k の関係を図示すると Fig. 2 の (A) のごとくなる。また平行衝撃力の大きさとの関係を示すと Fig. 2 の (B) のごとくなる。Fig. 2 の (A) および (B) から，張力 t および a の値は衝撃力 mv にほぼ比例するが減衰係数 k の値はこの実験の範囲内ではほぼ一定の値であることがわかる。

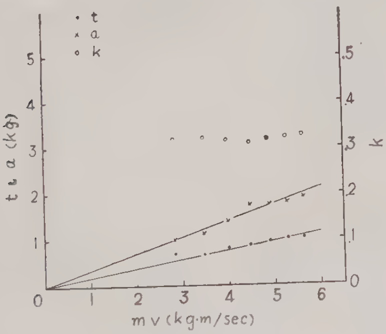
したがつて，$K_t = \dfrac{t}{mv}$ $\left(\text{又は } K_t = \dfrac{t-\tau}{mv}\right)$，$K_a = \dfrac{a}{mv}$ となり，(1) 式は

$$\frac{T}{mv} = K_t + K_a \cdot e^{-k(n-1)} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

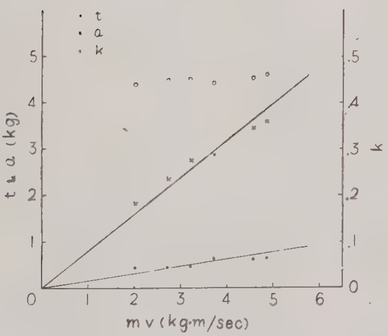
となる。すなわち，伝播張力は，衝撃の作用方向が網糸の展開面に垂直でも平行でも衝撃力の大きさにほぼ比例する。

3. 網地の張りが伝播張力におよぼす影響

綿糸 20 番手，3/60，蛙又，4 寸目の網地について，網地を張りつける際に網地の各脚の張力が 0.23kg のばあいについて，網地の展開平面に垂直に衝撃力を mv = 3.36～5.32kg·m/sec の範囲で与えたとき，衝撃力 mv と t, a および k の関係を図示すると Fig. 3 のごとくなる。この資料からみると，t および a は，一定の張りの条件下では衝撃力 mv にほぼ比例し減衰係数はほぼ一定の値を示した。これらの関係は，この 1 例の資料について求めたものであるので更に多くの資料について検討



(A)

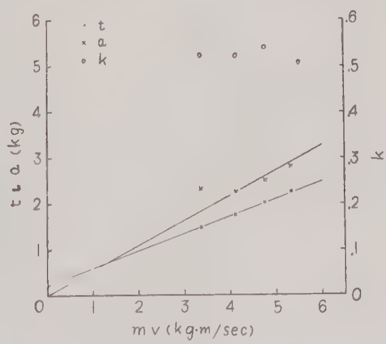


(B)

(A), The direction of impact load is vertical to the net.
The net is same as Fig. 1.

(B), The direction of impact load is parallel to the net as shown in Fig. 1 (B).
The net is same as Fig. 1.

Fig. 2. Relation between t, a, k and impact load(mv).



The direction of impact load is vertical to the net.
The net treated in this case is cotton 20's 3/60 mesh size 12.12cm trawler knot.
The initial tension of legs by stretching are 0.23kg.

Fig. 3. Relation between t, a, k and impact load (mv).

Table 1. Coefficients K_t, K_a and k when impact load is imposed on a knot of a net stretched.

Kind of material	Dimension of the thread and the mesh size			Kind of knot	τ	K_t	K_a	k	Mark
Cotton	20's	3/30	6.06 cm	Flat	0.15	0.21	0.63	0.45	V
〃	〃	3/60	15.15 cm	〃	0.13	0.21	0.49	0.45	〃
〃	〃	〃	18.18 cm	Trawler	0.12	0.44	0.79	0.47	〃
〃	〃	〃	〃	〃	0.23	0.35	0.55	0.52	〃
〃	〃	〃	12.12 cm	Knotless	0.12	0.53	0.80	0.38	〃
〃	〃	〃	〃	Flat	0.61	0.25	0.97	0.38	P_1

V, When impact load is vertically imposed on the net.
P_1, When its direction is parallel to the net as shown in Fig. 1 (B).
τ, The initial tension of legs by stretching in kg.

する必要を認めるが，張りのあるばあいの衝撃力と分布張力の関係を概略比例関係にあるとして，張付条件を異にした数種の張力測定値について，係数 K_t, K_a, k を求めると Table 1 のごとくなる。Table 1 の資料から網地の張りの強さと係数 K_t, K_a, k の関係を求めるには資料が少ないので傾向をみる程度のものであるが，衝撃方向が網地展開面に垂直，平行両方向ともに，係数 K_t, K_a は張りが強くなると，たるみのあるばあいの係数 Table 2 に比して大きくなる。これは張りが強くなると網地の伸びが起りにくくなるた

Table 2. Coefficients K_t, K_a and k when impact load is imposed on a knot of a net.

Kind of material	Dimension of the thread and the mesh size			Kind of knot	K_t	K_a	k	Mark
Cotton	20's	3/60	12.12 cm	Flat	0.19	0.36	0.32	V
〃	〃	〃	〃	Trawler	0.25	0.43	0.30	〃
〃	〃	〃	〃	Knotless	0.25	0.48	0.29	〃
Cremona	〃	〃	〃	Flat	0.25	0.33	0.30	〃
〃	〃	〃	〃	Trawler	0.33	0.35	0.26	〃
Manila	1 Monme*		〃	Flat	0.45	0.44	0.26	〃
〃	〃		〃	Trawler	0.45	0.51	0.25	〃
Amilan	210 D	3/90	〃	Flat	0.33	0.58	0.28	〃
〃	〃	〃	〃	Trawler	0.45	0.63	0.26	〃
Saran	1000 D	2/22	〃	Flat	0.30	0.42	0.30	〃
〃	〃	〃	〃	Trawler	0.39	0.43	0.28	〃
〃	〃	〃	〃	Knotless	0.45	0.56	0.24	〃
Cotton	20's	3/60	12.12 cm	Flat	0.16	0.81	0.44	P_1
〃	〃	〃	〃	〃	0.32	1.24	0.35	P_2
〃	〃	〃	〃	〃	0.04	0.63	0.52	P_3
〃	〃	〃	〃	Knotless	0.49	0.66	0.34	P_1
〃	〃	〃	〃	〃	0.80	1.28	0.20	P_2
〃	〃	〃	〃	〃	0.11	0.39	0.65	P_3

V, When impact load is vertically imposed on the net .
P_1, When its direction is parallel to the net as shown in Fig. 1 (B).
P_2 and P_3, When its direction is parallel to the net as shown in Fig. 1 (C).
*: Expression of dimension of manila twine by unit of weight Monme (1 monme =3.75 grams) per 151.5 cm.

めであろう。k の値は垂直衝撃のばあいは，張りが強くなると大きくなるが，平行衝撃のばあいは逆に小さくなる傾向である。これは，垂直衝撃のばあい張りが強くなると張力の伝播が網地の各部に同時に行われしたがつて分散がよく行われるからであり，また平行衝撃のばあいは張りが強くなると網目が変形しにくくなるために張力分散の度合が小さくなるのであろう。

4. 網地の種類による伝播張力の相違

前報[7]と同様，材料別で5種類，結節別で，本目，蛙又，無結節の新網地について実験した。網地張付条件は，中心結節が枠上平面より 10 cm たるむようにし，このときの主脚線上の張力測定値資料について実験式の係数を求めると Table 2 のごとくである。

a. 網地材料別の比較

Table 2 から，分布張力の大きさおよび減衰の度合は網地の材料によつて相違がみられる。すなわち，張力の大きさは，アミランが最大でマニラ，サラン，クレモナ，綿の順に小さく，減衰の度合は長繊維系のマニラ，アミラン，サランは短繊維系の綿，クレモナに比して小さい。一般に衝撃のばあいにおける k の値は静荷重の場合に比較してどの材料についても小さい結果を得たが，これはあまり減衰せずに遠くまで張力が伝播することを意味する。これは荷重が衝撃的に加えられるために，衝撃の作用点附近の網糸が伸びたり結節が締つたりする充分な時間的余裕がないので，網地自身の緩衝作用がよく行われないためであろう。

つぎに網地が垂直の衝撃力 3.96 kg·m/sec を受けたばあいの張力伝播の状態をオッシログラフの記録からみると，主脚線上の張力伝播の速さは 13 脚目で 0.01～0.02 秒のおくれがあるのに対し，対角線上の脚では8脚目で 0.08 秒であつた。これらの伝播速度は網地の種類によつて差はみられなかつた。材料別に主脚線第1脚目の張力変動波形をオッシログラフの記録から転写すると Fig. 4 のごとくである。この記録から，第1波において張力が最大に至るまでの時間をみると，アラミン 0.11 秒，マニラ 0.13 秒，サラン 0.15 秒，クレモナ 0.16 秒，綿 0.17 秒で材料によつて相違のあることがわかる。

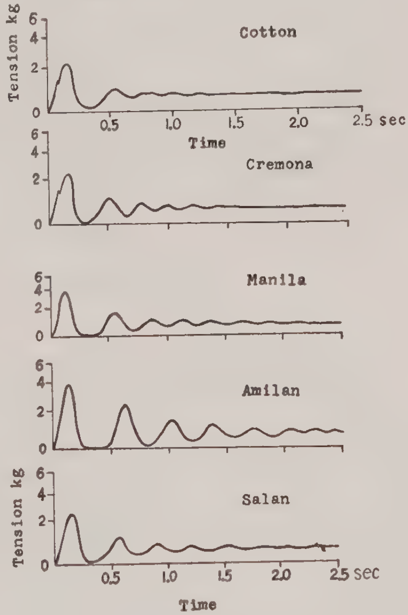


Fig. 4. Records of tension obtained with an oscillograph.

つぎに張力変動波形の第2波以後の山は，枠に網地が張りつけられているため主として網地の弾性によつて重錘が振動するために起るものであるが，この振動運動は短繊維の綿やクレモナ網地は1.5秒前後で終るのに比べ，長繊維のアミラン，マニラ，サラン網地では2秒以上におよんでいる。

第2脚以遠の脚でも張力が減衰したとはいえ同じ型の波形を描くことはもちろんである。

b. 結節別の比較

Table 2 の値から，網地における分布張力の大きさおよび減衰の度合は結節の種類によつて相違がみられいずれの網糸材料でも本目網地の張力は小さい値を示し，k の値は大きいので張力の分布範囲はせまい。無結節網地は最も大きい張力を示し，k の値が小さいので張力の分布範囲が広い。したがつて遠くまで張力が伝播する。蛙又網地は両者の中間である。

IV. 要　　約

1. 網地の1結節に対し網地の展開平面に垂直，または平行に衝撃が作用したばあい，張力分布の型式および材料，結節による特性は，静荷重のばあいと同じである。

2. 分布張力の大きさは，衝撃力の大きさにほぼ比例する。

3. 分布張力の大きさは，網地の張りが強い程大きい。

終りに臨み，この研究を行うに当り，終始御指導を頂いた　東京工業大学　草間秀俊博士に深謝するとともに実験の手伝いをして下さつた　江川靖司，辰村松男，井上四朗の諸氏に感謝します。

なお，本研究は農林漁業応用試験研究「網地強度試験機の試作研究」の一部として行つたことを附記し，関係諸氏に謝意を表します。

文　　献

1) 田内森三郎： 水講試報，**23** (1)，1927.
2) 近藤　仁： 本誌，**5** (3)，1936.
3) 清水房雄： 本誌，**6** (5)，1938.
4) 本多勝司： 本誌，**17** (5)，1951.
5) ————： Jour. Tokyo Univ. Fish. **38** (1)，1951.
6) NAGATA, T.: Jour. Tokyo Univ. Fish. **40** (1)，1953.
7) 近藤　仁： 本誌，**26** (4)，1960.
8) 近藤　仁・鈴木　誠： 本誌，**25** (5)，1959.
9) 草間秀俊・近藤　仁・鈴木誠： 本誌，**21** (9)，1956.

アサリ養殖における有害動物としてのカクレガニの生態—II.

アサリ *Tapes japonica* に共生するアサリピンノ *Pinnotheres gordoni* の生態とアサリの身入りにおよぼす影響について

杉浦靖夫・木原正光・杉田昭夫

(1960 年 2 月 4 日受理)

THE ECOLOGY OF PINNOTHERID CRABS AS PEST IN CULTURE OF *TAPES JAPONICA*—II. *PINNOTHERES GORDONI* LIVING IN *TAPES JAPONICA* AND THE INFLUENCE OF THE CRAB ON THE WEIGHT OF THE HOST'S FLESH.

Yasuo Sugiura*, Masamitsu Kihara and Akio Sugita**

We set forth already on the ecology of *Pinnotheres sinensis* found in *Tapes japonica*. As similar observations were made on the same item of *Pinnotheres gordoni* found in the same clam, the result is given in the present paper.

Pinnotheres gordoni is tolerant for host. It was found in such many bivalves at Kisarazu as *Tapes japonica*, *Mytilus edulis*, *Ostrea* (*Crassostrea*) *gigas*, *Meretrix lusoria*, *Mactra veneriformis*, *Chlamys nipponensis* and *Umbonium* (*Suchium*) *moniliferum* (gastropod). The rate of clams with the crab shows some extent of seasonal variation as being it is very low during the season from August to November, in which the water temperature runs from 16°C to 29°C, but is considerably high during the period from December to July in which the water temperature ranging between 10°C and 26°C (Table 1, Fig. 1).

It seems to be that *Pinnotheres gordoni* is somewhat related ecologically to *Pinnotheres sinensis*, because of these crabs are apt to live in the same host (Table 2). The host, *Tapes japonica*, suffers a certain amount of harm by the crab in guestion. The rate ($W \times 100/SW$; W = total weight of flesh of the clam; SW = shell weight of it) is $49.8 \pm 12.1\%$ in normal clam, but $41.6 \pm 12.6\%$ in symbionts.

緒　　言

既報のオオシロピンノ (*Pinnotheres sinensis* Shen) に関する研究[1] と終始並行して，アサリに共生するアサリピンノ (*Pinnotheres gordoni* Shen) について，その生態とアサリの身入りにおよぼす影響を調べた。宿主との共生関係はオオシロピンノの雌ほど深くはないが，やはりアサリ養殖上の加害動物の一つとして扱われることにかわりはない。木更津でアサリの中に見出されるカクレガニには普通アサリピンノと既報のオオシロピンノの2種がある。これらは同時に同一のアサリに入つていることも少なくない。生態的に両者間に関係があるように思えるので，本報告ではそれらの点についても触れることにする。本種の場合も

* 東京水産大学木更津実習場 (Kisarazu Fish. Lab. Tokyo Univ. Fish. Kisarazu, Chiba Pref., Japan).
** 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish. Minato-ku, Tokyo, Japan).

アサリとの関係は片利共生であるとみるのが適当であろう。以上についてここ3年間，千葉県木更津海岸でおこなつた実験結果の一部を報告する。

研究に関して終始懇篤な指導と校閲を賜わつた東京水産大学教授久保伊津男博士に深甚の謝意を表する。また研究にさいして種々助力を頂いた同大学木更津実習場片田実博士ならびにカニの共生率の地域性調査について協力を与えられた同大学宇野寛講師に感謝する。

材料および研究法

一般調査の材料は，オオシロピンノについて第I報に記したものと同一のアサリによつた。すなわち1956年9月〜1959年8月，定期的に月1回，木更津海岸のカニの被害がとくに著しい一定の場所（定期採集地 Fig. 2）から得た殻長 30〜50 mm のアサリ 3000 個体（1，2 周年目，月当り 100，3周年目 50 ずつ）である。砂上に露出している貝についての共生率調査には，1957年2月26日，定期採集地で得た同範囲の大きさのアサリを使用した。共生率の地域性についての調査では 1958 年6月30日〜7月1日，および 1959年6月27〜28日，Fig. 3 に示すような多くの地点で，面積 1 m²，深さ 10 cm までの砂中にすむすべてのアサリを採集し，殻長 20〜50 mm のものについて共生率を調べた。アサリの身入りにおよぼす影響の調査については，アサリピンノがアサリの中に多く見出された1956年12月〜1957年6月，および1958年1〜4月の定期採集地のもののうち，アサリピンノのみが単独に共生しているアサリと，対象として無共生のものをそれぞれ100個体使用した。

大きさの表現はアサリでは殻長，カニでは甲長を用いた。測定は初年には生貝について，2年目以降はホルマリン固定の材料について行つた。

実験結果

I. 形態，生態　このカニの分類学的に重要な標徴は，SHEN の原著[2]によると，甲は平で第3がく脚の指節は非常に小さく前節の中央につき，その先端に達しない；第3歩脚がもつとも長く，第4歩脚の指節は同脚の前節にほぼ等しい；胸部縫合線は腹部にまで達していない；第2，第3歩脚の腕節と前節には毛があり，前節は腕節より幅が広いなどである。木更津のカニは本報告の論議の章でのべるように，第3がく脚外肢の鞭状部の点だけが異り，その他の重要な標徴においては全く一致しているので，ここでは一応 *Pinnotheres gordoni* SHEN と同定する。

本種の宿主はアサリ一種には限られていない。すなわち木更津においては二枚貝では，アサリのほかに，ムラサキイガイ，マガキ，ハマグリ，アズマニシキおよびシオフキなど，また巻貝ではイボキサゴの外とうこう（外套腔）からも見出される。このうち，とくにアサリとムラサキイガイは代表的な宿主で，その点オオシロピンノの場合と同様である。アサリピンノは雌雄とも，甲はかなり丈夫で小さく，甲長 2〜3 mm に過ぎない。雌は甲長平均 2.4 mm，雄は 2.6 mm で，宿主からの脱出や宿主への潜入が可能である[4]。第2，第3歩脚に密生する毛は遊泳に適している。宿主からの出入は実験室内で確認したが，とくに前者（脱出）は容易に観察できた。初年には毎月定期的に採集したアサリ 120 を，実験に先だつて砂を吐かせるために，約 4.5 cm の深さに海水を満した 36×26 cm の内面白色のホーロー引バットに，おのおの 20〜30 個ずつ入れて放置した。1957 年2〜7月の観察では，室温で1日平均1個体のカニの脱出を認めた。これに対し8月のものでは，8日 11 時に採集したアサリ 120 を直ちに上記の方法で4分して放置しておいたところ，水温 28〜29°C で5時間以内に7個体，翌朝8時までにさらに2個体の雄の脱出が見られた。後日全部のアサリでは上記を含めて計15個体のカニ（雌 1，雄 14）がいたことがわかつたから，結局半数以上のカニが1日もたないうちに脱出してしまつたことになり，天然で8月にカニが貝からまとまつて脱出する事実(後述)と一致している。後者（潜入）についても 1957 年4月，5 cm の厚さに砂を敷き，その上に 4 cm の深さに海水をみたした直径 12 cm の筒形ガラス水そうに，カニが全く共生しないアサリと，アサリから取出したカニを3個体ずつ入れたものを5組用意して，水温 16〜22°C で飼育したところ，1週間後には5個体のカニが，それぞれ別々のアサリの中に入つていることを確認した。遊泳については室内水そうで第2，第3歩

Table 1. Rate of occurrence of *Tapes japonica* infested with *Pinnotheres gordoni* and number of crabs found. T, Nos. of *T. japonica* used. I, Rate (%) of occurrence of *T. japonica* infested with *P. gordoni*. ♀, ♂, Nos. of female and male crabs found.

Date	T	I	♀	♂	Date	T	I	♀	♂	Date	T	I	♀	♂
1956					1957					1958				
Sept. 18	100	2	0	3	Sept. 8	100	1	0	1	Sept. 14	50	0	0	0
Oct. 15	〃	5	1	5	Oct. 9	〃	0	0	0	Oct. 11	〃	0	0	0
Nov. 15	〃	10	1	9	Nov. 6	〃	1	1	0	Nov. 19	〃	0	0	0
Dec. 12	〃	31	19	20	Dec. 17	〃	17	6	17	Dec. 23	〃	2	0	1
1957					1958					1959				
Jan. 14	〃	32	16	26	Jan. 9	〃	28	12	24	Jan. 16	〃	6	2	2
Feb. 15	〃	37	28	26	Feb. 6	〃	33	19	21	Feb. 14	〃	10	3	2
Mar. 15	〃	36	28	27	Mar. 9	〃	26	21	15	Mar. 27	〃	10	3	2
Apr. 13	〃	29	23	26	Apr. 7	〃	29	12	24	Apr. 24	〃	8	2	2
May 11	〃	37	21	33	May 2, 17	〃	20	3	21	May 22	〃	2	0	1
June 8, 14	〃	22	8	17	June 16	〃	22	3	22	June 20	〃	8	2	6
July 11, 13	〃	31	2	38	July 4	〃	24	1	25	July 18	〃	20	2	12
Aug. 8	〃	6	1	12	Aug. 12	〃	4	0	4	Aug. 16	〃	6	0	3
Total (T, ♀, ♂) and Average (I)	1200	23	148	242	Total (T, ♀, ♂) and Average (I)	1200	17	78	174	Total (T, ♀, ♂) and Average (I)	600	6	14	31

脚をさかんに動かして泳いでいるのを往々目撃した。

定期採集のアサリについて，月ごとにアサリピンノが共生するものの割合と，アサリから見出されたカニ数をまとめると，Table 1 または Fig. 1 のとおりである。共生率は水温 16～29°C を示す 8～11 月ごろには 10% 以下で著しく低いが，水温が 10°C 前後を示す 12 月頃から急に増加して，26°C 前後の 7 月までかなり高率である。雌雄別に見ると，雌は雄に比較して少なく，性比は 1.86 である。本種では同時に同一宿主に 2 個体以上のカニが入つていることは少なくない。1957 年 2 月には定期採集地で 6 個体入つているものを採集した。干潟で砂上に露出しているアサリと普通に砂にもぐつているアサリについて共生率を比較すると，前者では供試貝 39 個体中に 60 個体の，後者では 80 個体中に 43 個体のカニが発見され，露出貝には普通のものの約 3 倍のカニが共生しているのが見られた。

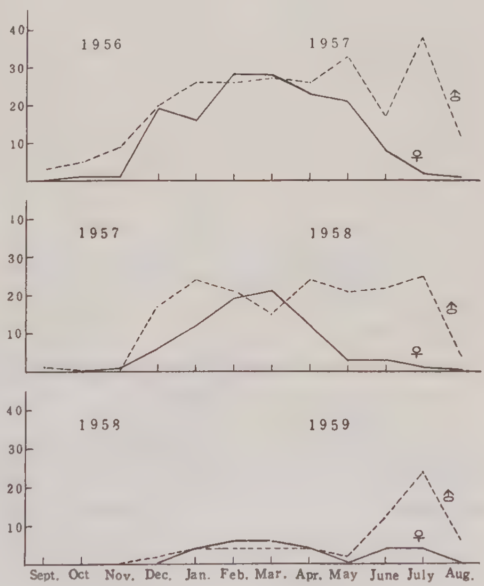


Fig. 1. Monthly change in number of *Pinnotheres gordoni* found in the *Tapes japonica* examined 100 individuals in each month. Abscissa, months. Ordinate, Number of crabs found.

定期採集のアサリについて，年ごとに，(a) オオシロピンノが単独に共生するもの，(b) オオシロピンノとアサリピンノが混合共生するもの，(c) アサリピンノが単独に共生するもの，(d) 別種が単独に共生するもの，の占める割合を調べると，アサリピンノは単独

Table 2. Rate (%) of *Tapes japonica* infested with each crab. (*P. sinensis* (Ps), *P. gordoni* (Pg) etc.) T, Total number of clams used; Os, other species; Ni, non infested.

Seasons	T	Ps	Ps+Pg	Pg	Os	Ni
Sept. 1956～Aug. 1957	1200	43.6	15.5	7.7	0.2	33.0
Sept. 1957～Aug. 1958	1200	33.3	11.7	5.4	0.3	49.3
Sept. 1958～Aug. 1959	600	17.0	4.2	1.8	0.0	77.0

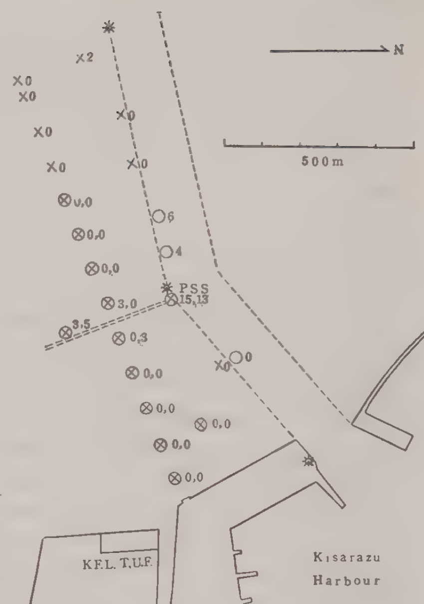


Fig. 2. Rate of occurrence of *Tapes japonica* infested with *Pinnotheres gordoni* in each region of Kisarazu coast. ×, 1958; ○, 1959; pss, Periodical sampling station. Numerals, Rate (%) of occurrence (left, 1st year; right, 2nd year). ┈┈┈ Channel.

に共生するよりもオオシロピンと混合共生する場合の方が多い(Table 2)。

共生率の地域性について見ると，航路を含めたみおぞいの地域，とくにその合流点（定期採集地 Fig. 2, PSS）が高率で，オオシロピンノの場合と同様な傾向である。

II. カニの共生がアサリの身入りにおよぼす影響

前記の材料によつて身入りの割合（肉重×100/殻重）% を比較すると，アサリピンノが共生しているアサリでは 41.6 ± 12.6%，無共生のものでは 49.8 ± 12.1% で，これらの平均値間には有意差が認められる。

論　　議

SHEN の原記載[2] を見ると，雄の第 3 がく脚の外肢は単に三角形であると記してあつて，図にもその鞭状部は示されていない。オオシロピンノについては，それは長卵形で，鞭状部も 2 節から構成されていることが記述され，図にもそのとおり示されている。原記載からは，アサリピンノの第 3 がく脚に鞭状部があるのか，ないのか，またはあるのに記載しなかつたのか，それともそれが欠損していたのか全くわからないが，われわれの観察では，それが立派に存在することが認められる。なお雌についての記載はないようであるが，これは後日の問題としたい。

宿主について酒井[5] はアサリをあげ，SHEN[2] は恐らく *Tapes variegatus* HANLEY およびときに oyster の一種としているが，木更津で調査した結果では，いろんな種類の貝類に共生することが判明した。これはカニの host specificity が低いことを示している。

分布について酒井[5] は伊豆半島，伊勢湾，博多沿岸をあげているが，東京湾にも本種が分布していることは明らかである。

晩夏から秋（8～11 月頃）には共生率が極度に低くなるが，これは生態的にきわめて注目すべきことである。アサリの中にこのカニが見出されないことは，このカニが死んだのではなく，貝から脱出したことによるものであることは，脱出直前および潜入直後のカニの形態を比較することによつても，また室内で飼育観察した結果によつても疑う余地はない。最近松尾[6] はオヨギピンノ（*Tritodynamia horvathi* および *T. intermedia*）やラスバンマメガニ（*Pinnixa rathbuni*）などが有明海の干潟にすむチンチロフサゴカイの棲管に共生していることを発見した。酒井[5] もこれらのカニがあるいは夏季内湾洋上に群泳し，あるいは海底に群棲していた（宮地）という現象に対して，平素はゴカイに共生していたカニが一時的に群集したものであろうと述べている。本種ではまだ天然に貝の外でまとまつて生活していることは知られていないが，8 月ごろ貝から脱出して，秋季海中に群集することがあるのではないかと考えられる。ただし，集団脱出の時期（8 月）ならびに潜入についての室内実験はほんの予察程度であるから単なる参考にとどめたい。

砂上に露出したアサリにカニの共生率が高い理由は明確にはわからない。しかし一般にアサリやハマグリ

などでは，環境条件が悪いと砂上に露出する傾向があり，露出しているものは衰弱しているものが多いからカニの共生によつてアサリに悪影響が与えられ，そのためにアサリが砂上に露出するのではないかと考えられる。周年調査の結果で見ると，本種が単独でアサリの中に入つている場合よりも，オオシロピンノと混合共生している場合の方が多く，また共生率の地域性についての調査結果でも両者の比率はそれぞれ 1: 4 でアサリの同一個体内に同時に見出されることの方が多いことが知られる。両種は分布的にほとんど同様であるばかりでなく，3年間の調査結果について見ると，種ごとの共生率が同規的に減少傾向をたどつていることでも一致している。SHEN も遼東半島産のアサリピンノについて，その2個体がオオシロピンノと同一の宿主から発見されたことを記載しているが，異種のカニが同一宿主内に共存していることはきわめて興味あることで，これらの両種間に何か生態的な関係があるのではないかと考えられるが，これらについてはさらに今後の研究にまつほかはない。

このカニの共生がアサリの身入りにおよぼす影響は，オオシロピンノの場合と比べればはるかに少ないけれども，やはり既述のようにある程度の影響は認められよう。

要　　約

（1） アサリピンノは木更津で調べた結果では，アサリのほか，ムラサキイガイ，マガキ，ハマグリ，シオフキ，アズマニシキおよびイボキサゴなどにも共生する。

（2） アサリピンノの成体は水中を自由に遊泳でき，雌雄とも宿主の体に容易に出入する。これらは室内の飼育実験で確認される。

（3） 共生率には顕著な季節的変化が見られる。水温 16～29°C の 8～11 月頃には，カニが貝から脱出するために共生率は著しく低下し，12 月ごろ水温が 10°C 位になると，カニが貝に潜入するらしく，再び共生率が増大し，7月ごろまで高率が持続される。

（4） 砂上に露出したアサリは共生率が高い。

（5） アサリピンノはアサリの同一個体内にオオシロピンノと混在することが多く，両種間に生態的な関係があるのではないかと思われる。

（6） 本種の共生はオオシロピンノの場合より少ないが，その場合と同様にアサリの身入りに負の影響が認められる。

文　　献

1) 杉浦靖夫・杉田昭夫・木原正光： アサリに共生するオオシロピンノの生態とアサリの身入りにおよぼす影響について. 本誌, **26**, 89 (1960).

2) SHEN, CHIA-JUI: The Brachyuran crustacea of North China. Zoologia Sinica Ser. A. **9**, 131 (1932).

3) 酒井　恒： 日本産カクレガニ科の分類. 植動., **1**, 977 (1933).

4) WELLS, W. W.: Ecological studies on the Pinnotherid crabs of Puget Sound. Univ. Washington Pub. Oceanog., **2**, 19 (1940).

5) 酒井　恒： 蟹. 紫生書院 (東京). (1956).

6) 松尾美好： オヨギピンノ（カクレガニ科）の生態. 動雑., **66**, 134 (1957).

二重刺網の形状におよぼす波浪の影響

波の進行方向と平行に網地を入れた場合について

野村正恒・森 敬四郎・武富 一

(1960 年 2 月 11 日受理)

INFLUENCE OF WAVES AGAINST BEHAVIOUR OF THE DOUBLE DRIFT NET IN THE WATERS

THE CASE WHEN THE NET IS PUT PARALLEL WITH RUNNING WAVE DIRECTION

Masatsune NOMURA, Keishiro MORI and Hajime TAKETOMI*

Meshes of the gill net will be complicated in their shapes by the waves when put in the waters. It seems that the movements of the meshes by the waves, have a great connection with fish-gilling-efficiency of the gear.

This paper gives an analysis of observation experiment to the waving states of the meshes, done in applying a model net, one-fifth size in the scale of the actual salmon double drift net, used in the North Pacific Ocean, in being waved artificially in the experiment tank (belonged to Tokai Reg. Res. Lab.).

The waving states of the float line and the lead line of the gear, are just same in wave-length, periodic time and velocity, but do not always so correspond to the peaks of waving that the distance of length between the two peaks ($\Delta\lambda$) is observed as shown in Fig. 1.

Seeing the relation indicating the values between the wave-length λ and $\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}$ illustrated in the Tab. 2, the peak of the float line in waving is just coincided with the lead line in the lowest waving when the length λ takes a certain value, then it brings about the least favourable function to the net in gilling efficiency. It is considered that though, this value of λ was 4 meters in the case of this experiment net as shown in Fig. 2, the value of λ would be varied according to width of the net, mesh length and shrinking rate of the net.

The relation between $\left(\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}\right)\times\left(\frac{H}{\lambda}\right)$ and the value of an average amount of the lengthening and shortning lengthwise of the mesh (Table 3) in calculating on the basis of the Fig. 5, has the interrelation with a linear line as seen in Fig. 8.

The results of the experiment come to the conclusion that the value of $\left(\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}\right)\times\left(\frac{H}{\lambda}\right)$ should be smaller in order to keep the favourable condition for gilling, and lengthening and shortening of the meshes less, particularly the value of $\left(\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}\right)$ should be less than 0.5, and the heavier weight of sinkers, the better, also the length of hanging thread is better to be longer as possible as it could be.

1. 緒　　言

さきに三枚網の一枚網に対する漁獲性能の比較の基礎実験を行つて二重刺網の構成する諸要素すなわち小目網の大目網に対する「たるみ」，小目網の縮結，小目網の目合等が漁獲にどのような影響をおよぼすかにつ

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chuō-ku, Tokyo, Japan).

東海区水産研究所業績 B 第 328 号

いて基本的な実験を行つた[1]。

漁獲機構に関連して，網漁具が海中にある時の状況を把握することは，操業上での性能の変化を論ずる場合に必要である。現場において実際の流網の漁具の状況を種々の測定計器を用いて測定し棒巻その他の現象について解析した葉室の研究[2]があるが，これは現場での実際の資料が得られたという点で非常に貴重な研究であつたが，一面実験条件をコントロールすることができないうらみがある。この実験ではその条件を種々に変え，かつ大目を使用することにより網目観測も可能となる二重刺網を主な実験対象として選んで網成りその他の研究を行つたものである。

2. 実験網並びに実験の方法

実験の対象となつた流網の種類は現今の鮭鱒一枚網，新らしく設計した二枚網，三枚網および特殊二枚網として大目1目に対し縦横小目 6×6 目および 8×8 目の五種である。ここで一枚網は縮結 0.43，二,三枚網は小目網の縮結 0.55,「たるみ」1.3，大目網縮結 0.3 とする。

実験網は実物網に対するスケールの縮尺比を $\lambda'/\lambda'' = 1/4.8$， 網糸の太さおよび目合の大きさの縮尺比を$D'/D'' = L'/L'' = 1/4.8$，綱類の太さの縮尺比を $D_1'/D_1'' = 0.26$ とした。したがつて一枚網および二枚網の小目網の目合は 2.5cm，大目網の目合は 10cm である。波動の中での実験では水中にある物体には加速度が生ずるので田内比較則の厳密な適用はできない。この実験によつて得られた結果はこの供試実験網での知見であつて，実際網の網成り推定に対して何らかの手がかりを得ることが目的である。

実験網は東海区水産研究所所属の試験水槽を使用し，実験に際しては水槽の横の透視窓から実験網の写真撮影および 8mm 動画の撮影を行い，各種の波を起こして波浪中での網成りや運動の状況を測定した。この水槽は長さ 50m，幅 5m，水深 2m で，この中で造波装置により，波高，波長を変化させて波を起し，一反の長さ約 5.2m， 網幅 1.2m の実験網を3反連続してつなぎ両端2反の網端は上下棚に平行に適当な張りを保ち，真中の網について観察を行つたものである。

波については実際漁場での波の性質およびこの実験での波の性質を Table 1 に示す。

Table 1. Condition of wave

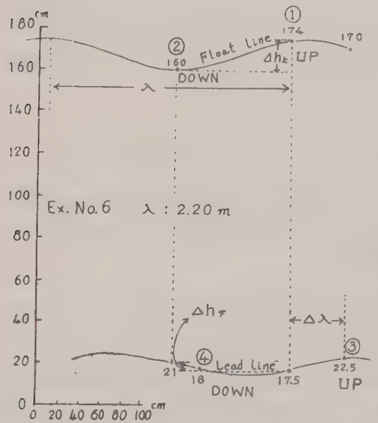
	Wave condition in fishing ground		Wave condition in experiment	
	Range	Standard (average)	Range	Standard (average)
Height (H m)	0.5～2.0	1.0	0.1～0.4	0.2
Length (λ m)	10～30	20	2～6	4.2
Period (T sec.)	2.5～12	7	1～5	2.8
Velocity (V m/sec.)	2.5～5	3	1.5～2.5	1.5

3. 波浪中での網漁具の運動とくに上棚・下棚の波動運動

主として二枚網についての実験結果について報告する。一般に波はトロコイド波であるため同一点の水分子は円運動を行う。この波の上下による上棚の波動は波長，周期が完全に同調し，この動きが主として斜め方向に伝わり，さらに吊糸を通して下棚に伝わる。したがつて下棚波動の周期，波長，速度は上棚のそれと殆んど変らないが，波高はかなり減少する。ただし周期のズレは様々で，この周期のズレによつて上棚の波動の山と下棚のそれの山または谷が一致したり，ずれたりする。このように上棚と下棚の波動の状況は必ずしも一致しないので,例えば上棚の波動の山と,下棚の波動の谷とが一致したようなばあいにはその部分の網目は上下方向に伸びがおこり，これが交互に繰返えされると網地に不要なたるみを生ずる原因ともなり魚の罹りの条件にも不利となり，かつ棒巻現象に関連の深いことが想像される。これらのことを詳細に調べるため，網地各部の上下左右のうごきを波動の山，谷およびその中間において測定し得るよう目盛尺を鉛直，

水平に水槽内に設置して各瞬間における網のうごきや変形を網の上部および下部について同時に写真撮影および 8 mm 動画撮影を行つたものについて考察した。

1) 上棚の波動の山，谷と下棚の波動の山，谷のズレの度合と波の条件との関係



得られた写真から，各瞬間での上棚および下棚に固定した定点の高さを測定，これより得た上棚，下棚の波動の図示の一例を Fig. 1 に示す。各実験毎でのこれらの図から上棚の山と下棚の山におけるズレの水平的な長さ $\varDelta\lambda$ を読みとり，また上棚の山と谷との高さの差 $\varDelta h_{上}$ とこれらの瞬間における下棚のこれに相当する位置の上下の差 $\varDelta h_{下}$（これには正負の符号をつ

Fig. 1. The waving states of the float line and the lead line calculated from photographs on the basis of an experiment (example).
Marks ① and ② are at the moment of the highest and the lowest positions of the float line respectively, ③ and ④ the highest and the lowest positions of the lead line.

Table 2. Values of the experiment

Experiment No.	Condition of wave: Height H (cm)	Length λ (m)	Period T (sec.)	Velocity V (m/sec.)	Lead W (*monme*) (1 *monme* = 3.75gr.)	Length of string l (cm)	*Horizontal difference of length $\varDelta\lambda$ (m)	Vertical difference of height $\varDelta h$: In float line $\varDelta h_{上}$	In lead line $\varDelta h_{下}$	$\frac{2\varDelta\lambda}{\lambda}$	$\frac{H}{\lambda}$	$\left(\frac{2\varDelta\lambda}{\lambda}\right)\times\left(\frac{H}{\lambda}\right)$	$\varDelta h_{上}-\varDelta h_{下}$
22	10.5	1.9	1.1	1.7	5.5×26	28	0.6	9.5	−4	.63	5.5×10^{-2}	3.46	13.5
26	12.5	2.0	1.2	1.6_7	3 〃	〃		14			6.3 〃		
6	11	2.2	1.1	2.0	〃 〃	22	0.6	14	−3	.55	4.3 〃	2.36	17
25	11	2.3	1.2	1.9	〃 〃	28		12			4.3 〃		
27	11	3.4	1.5	2.2	〃 〃	〃		15			3.2 〃		
11	20	3.6	1.5	2.4	〃 〃	22	1.8	20	−9	1.00	5.5 〃	5.50	29
30	18	3.8	1.6	2.4	〃 〃	28	1.8	16	−6	.95	4.7 〃	4.46	22
3	20	4.0	1.6	2.5	〃 〃	22	1.8	19	−8	.90	5.0 〃	4.50	27
19	20	4.0	1.6	2.5	5.5 〃	28	2.0	17	−10.5	1.00	5.0 〃	5.00	27.5
5	6.5	4.0	1.8	2.2	3 〃	22	2.0	6	−4	1.00	1.4 〃	1.40	10
21	7	3.5	1.6	2.2	5.5 〃	28	1.2	7	−4	.69	2.0 〃	1.38	11
4	10	4.0	1.4	2.9	3 〃	22	2.0	12	−7.5	1.00	2.5 〃	2.50	19.5
2	12	4.3	1.8	2.4	〃 〃	〃	0.2	12	−1.5	.18	2.8 〃	0.51	10.5
12	12	4.5	1.8	2.5	0	〃		12	0	—	2.7 〃		12
10	14.5	4.5	1.8	2.5	3 〃	〃	1.8	15	−2	.80	3.2 〃	2.56	17
16	15	4.8_6	1.8	2.7	0	12.5		16	0	—	3.1 〃		16
20	3.5	5.7	2.1	2.7	5.5 〃	28	0.6	3	0.5	.21	.6 〃	0.13	3.5
24	3	5.7	2.2	2.6	3 〃	〃	2.8	4	−2	.98	.5 〃	0.49	6
29	9	6.5	2.3	2.9	〃 〃	〃	0.4	12	4	.12	1.4 〃	0.17	8
1	8.5	6.9	2.3	3.0	〃 〃	22	1.0	8	2	.29	1.2 〃	0.35	6
9	9.5	6.9	2.2	3.1	〃 〃	〃	0.4	10	7.5	.12	1.4 〃	0.17	2.5
18	11	6.4	2.2	2.9	5.5 〃	28	0.8	12	1	.25	1.7 〃	0.43	11
8	6	7.0	2.8	2.5	3 〃	22	0	5.5	4	0	.9 〃	0	1.5
13	6	8.1	2.6	3.1	0	〃	0.8	9	1	.20	.7 〃	0.14	8
14	7.5	8.1	2.6	3.1	0	12.5	1.0	9	1	.25	.9 〃	0.22	8
17	6	8.7	2.8	3.1	5.5 〃	28	0	7	3	0	.7 〃	0	4
7	3	8.7	3.1	2.8	3 〃	22	0	3	2	0	.3 〃	0	1

* The difference of length between the positions of float line and lead line both at the moment of highest in waving.

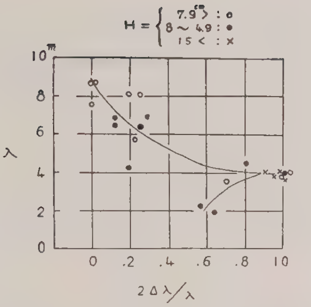


Fig. 2. The relation between λ and $\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}$.

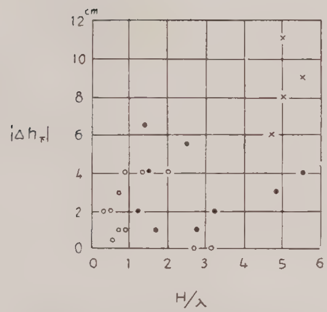


Fig. 3. The relation between H/λ and $|\Delta h_{下}|$. The symbols are same as Fig. 2.

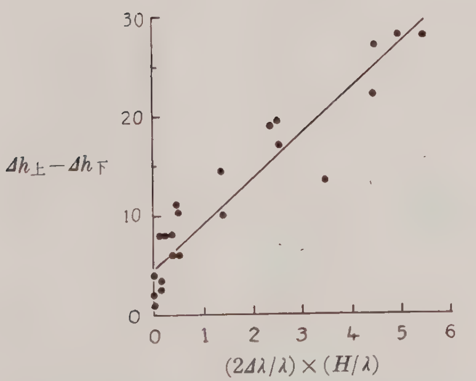


Fig. 4. The relation between $\left(\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}\right)\times\left(\frac{H}{\lambda}\right)$ and $(\Delta h_{上}-\Delta h_{下})$.

け上棚と同方向の場合を正,逆方向の場合を負とする)等を読みとつて各実験における諸値を Table 1 に示した。

Table 2 より波長 λ と $2\Delta\lambda/\lambda$ との関係を Fig. 2 に示す。これによると $2\Delta\lambda/\lambda=1.00$ すなわち上棚の山を下棚の谷とが完全に一致する場合は例外なく λ は 4.0m 附近である。λ が 4.0m より大きくなると漸次 $2\Delta\lambda/\lambda$ の値はよ1り小さくなり $2\Delta\lambda/\lambda=0$ すなわち上棚の山と下棚の山とが合致する場合に λ の価は 8m 前後となり 4m のほぼ2倍となる。また λ が 4m より小さい場合も $2\Delta\lambda/\lambda$ は1より漸次小さくなるようである。このように流網が波の進行方向と平行におかれたときは山，谷の関係は波の波長と関連があり，この実験網では山と谷との一致は波長 4m のときであるが，その根拠については恐らく網地の幅，目合，縮結および沈子の量に主として関連して決まるものと思われる。したがつてこれら網地の構成要素のうちとくに網幅を変えた場合に山と谷とが一致する波長がどのように変化するかを究明することが必要である。

つぎに下棚の上下量 $\Delta h_{下}$ の絶対値と H/λ との関係を Fig. 3 に示す。H/λ の値が大きくなるにつれて大略 $|\Delta h|_{下棚}$ の値は大きくなる傾向がある。$2\Delta\lambda/\lambda$ の値が 0.5 以上のときは $\Delta h_{下棚}$ の値が負となるのでこのとき波高 H も大きいと $\Delta h_{上棚}$ は大きくて符号は正，$\Delta h_{下棚}$は大きくて符号が負となり，波の上下による網の縦長の伸縮を示す指標 $(\Delta h_{上棚}-\Delta h_{下棚})$ の値は大きくなる。とくにこの実験網の場合，山と谷とが一致する波長 4m では，かなりの波高がこれに伴い，網が緊張されるような条件下に至ると棒巻の可能性もあり得ると考えられる。

Table 2 から $\left(\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}\right)\times\left(\frac{H}{\lambda}\right)$ の値を計算し，これと $(\Delta h_{上棚}-\Delta h_{下棚})$ の関係を示すと，Fig. 4 のようになりその関係はかなりはつきりする。

2) 波浪中での網の各部のうごき，網目の伸縮量の変化状況とおよびこれと沈子量および吊糸の長さとの関係

二枚網の仕立にあつて（沈子 3 匁鉛×26 個，吊糸 22 cm)，(沈子なし，吊糸 22 cm)，(沈子なし，吊糸 12.5 cm)，(沈子 5.5 匁鉛×26 個，吊糸 28 cm）の四通りの場合について，静止の時，各波浪中の時での大目網の網目，上棚，下棚の位置を写真より図面上にトレースして確認し，上棚の点，大目網で上より1目目の下部結節点（これを第1目の位置点とする。以下同様)，3, 5, 6, 7, 14, 15, 16, 17 目目の各下部結節点の位置および下棚の点計

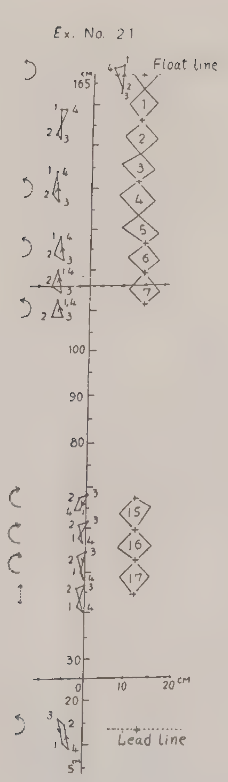


Fig. 5. The movement of eleven points of the net in one period of wave (example).
The positions of these meshes in a static water are shown "+". The movement's marks 1, 2, 3 and 4 denote the moments as shown in Fig. 1. The direction of the motion is from 4 to 1,3 and 2 succeedingly. The dotted arrow curves show the course of motion.

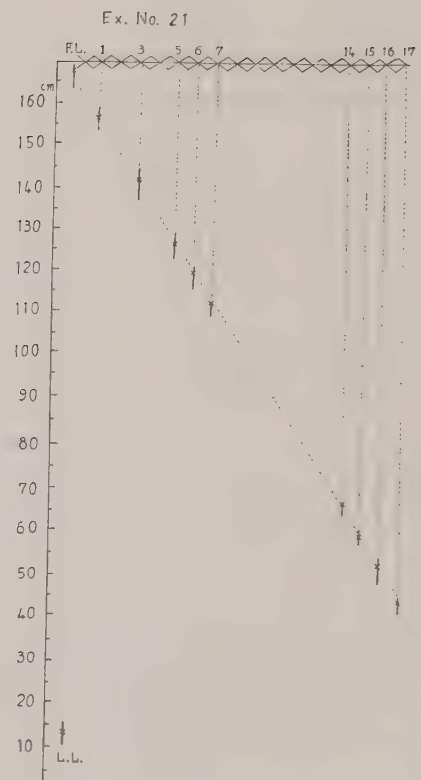


Fig. 6. Vertical amplitude of motion on eleven points of net calculated by Fig. 5.

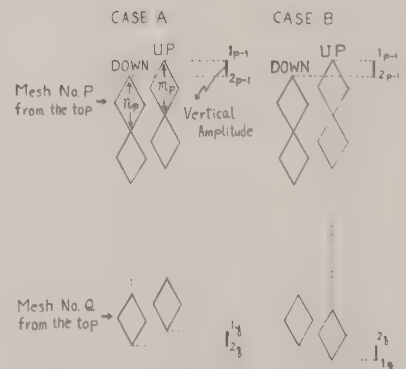


Fig. 7.

11 点のうごきを Fig. 1 に示す ①, ②, ③, ④の観測点毎に追つて図上にトレースを行ない，それらの一例を Fig. 5 に示した。この図から静止時の網目の位置，各点の運動および運動方向の順番が明瞭に判る。この運動は非回転的な循環軌道を描くようである。なお，ここで基準の実験網の構成は沈子 3 匁 × 26 個，吊糸22cm である。またこの Fig. 5 より上棚の点の山および谷のときの網地の各点の上下振巾量を測つてこれを縦軸とし横軸には網の上部からの目数の点をとり，両者の関係の一例を Fig. 6 に，これら各点の上下振巾量から波の山の場合を谷の場合と比較して各部の網目がどれだけ伸びたり縮んだりしているか，すなわち伸縮量(伸縮量が正のときは上棚の点が山のときの網目の縦長が谷のときの縦長より伸びていることを表わし，負のと

Table 3. Amount of lengthening and shortening of mesh lengthwise

	Ex. No. 6		No. 8		No. 9		No. 10	
	Vertical amplitude of motion	Average amount of lengthening and shortening of mesh	Vertical amplitude of motion	Average amount of lengthening and shortening of mesh	Vertical amplitude of motion	Average amount of lengthening and shortening of mesh	Vertical amplitude of motion	Average amount of lengthening and shortening of mesh
Float line	16 cm	cm	6 cm	cm	10 cm	cm	15 cm	cm
Mesh No. 1	12	2.7	6	0	12	1.3	13	1.3
〃 3	8	2	7	0.5	11	0.5	15	1
〃 5	4	2	6	0.5	9	1	13	1
〃 6	2.5	1.5	6	0	9	0	12.5	0.5
〃 7	2.5	0	5	1	11	2	12.5	0
〃 14					6.5	0.6	2	1.5
〃 15					7	0.5	1.5	0.5
〃 16			3	0.2	7	0	−2.5	4
〃 17	−4	0.7	6	−3	6	−1	−2.8	0.3
Lead line	−3		4		7.5		−2.2	
Average amount of lengthening and shortening of mesh from top to bottom	{16−(−4)}/17=1.18		(6−6)/17=0		(10−6)/17=0.24		{15−(−2.8)}/17 =1.05	

	No. 11		No. 12		No. 19		No. 21	
Float line	18		12.5		17		7.8	
Mesh No. 1	17.5	0.3	12	0.3	17	0	6.8	0.7
〃 3	18	0.25	8	2	18	0.5	7.5	0.4
〃 5	17	0.5	7.5	0.2	16	1	6	0.7
〃 6	14	3	7	0.5	14	2	6	0
〃 7	10	4	7	0	12	2	4	2
〃 14	−6	2.3			−4.3	2.3	−3.5	1
〃 15	−6	0			−7	2.7	−5	1.5
〃 16	−8	2	−2.5	1.1	−7.8	0.8	−7.5	2.5
〃 17	−11	3	−4	1.5	−10	2.2	−6	1.5
Lead line	−10		1		−11		−7	
Average amount of lengthening and shortening of mesh from top to bottom	{18−(−11)}/17=1.7		{12.5−(−4)}/17 =0.97		{17−(−10)}/17 =1.59		{7.8−(−7)}/17 =0.87	

きはその逆とする）を計算して Table 3 に示した。ここで網目の縦長の伸縮量は Fig. 7 により次式にしたがつた。図の A の場合，p 目から q 目までの総伸縮量は

$$(m_p - n_p) + (m_{p+1} - n_{p+1}) + \cdots + (m_q - n_q)$$
$$= (1_{p-1}2_{p-1} - 1_p 2_p) + \cdots + (1_{q-1}2_{q-1} - 1_q 2_q)$$
$$= (1_{p-1}2_{p-1} - 1_q 2_q)$$

したがつてこの間の平均の伸縮量は

$$|(1_{p-1}2_{p-1} - 1_q 2_q)/(q - p + 1)|.$$

B の場合

$$|\{1_{p-1}2_{p-1} - (-1_q 2_q)\}/(q-p+1)|$$

となる。

$(2\Delta\lambda/\lambda)\times(H/\lambda)$ の値と上棚より 17 目までの縦長の伸縮量の1目平均（1目平均伸縮量と呼ぶ）との関係を Fig. 8 に示す。これは Fig. 4 と同じくほぼ直線関係を示すことが判る。

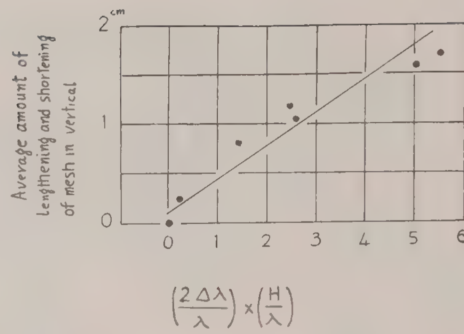


Fig. 8. The relation between $\left(\frac{2\Delta\lambda}{\lambda}\right)\times\left(\frac{H}{\lambda}\right)$ and average amount of lengthening and shortening lengthwise of mesh.

実験を通じて罹網の良・不良の条件を導き出すため Fig. 5, 6, Table 3 ならびに 8mm 動画撮影の結果等を参考にして Table 3 の 9 例について網目の各部のうごき，循環の方向，網糸の張り，吊糸のうごき等について詳しく検討を行なつた。その結果，上棚の山と下棚の谷とが一致するような条件では，網巾の上部の箇所は波による上下運動が大きく，下部は水平運動が大きく，上部から下部にわたつて波による各点の軌道の循環方向が 1〜2 回逆転を生ずること，したがつて運動の途中で網糸の張緩が大きいこと，また運動による網地のたるみあげられ方は沈子量の少ないほど大きく沈子なしの場合は著しいこと等が判つた。

以上を通じて，流網が波の進行方向と平行におかれたとき罹網に好ましく棒巻現象の生じにくい条件を纏めると，

1) $(2\Delta\lambda/\lambda)\times(H/\lambda)$ の値が小さいこと。これは波の上下による網目1目当りの縦長の伸縮量の小さいという結果を与える。またこの値の中で $2\Delta\lambda/\lambda$ の値は1に近くなると上棚の山と下棚の谷とが一致して悪い条件を構成するのでこの値は 0.5 以下であることが望ましい。

2) 網地のたるみあげを無くするためには沈子量はなるべく大きいことが望ましい。

3) 実験が1組で不確ではあるが，H, λ が等しく吊糸のみが 22 cm と 28 cm と異なる No. 11 と No. 30 の実験例を比較して，$(\Delta h_{上} - \Delta h_{下})$ の量は吊糸の長さの長い方が少なく，これも好ましい条件の一つのように思われる。

終りに，本稿の御校閲を賜つた東京水産大学名誉教授田内森三郎博士，御教示を頂いた東海区水産研究所高山重嶺漁具法部長，ならびに実験を実施するに当り絶大な御協力を頂いた日魯漁業株式会社北洋部に感謝する。

文　献

1) M. NOMURA: Experimental fishing test on the efficiency of double gill net. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **26** (2), (1960).

2) 葉室親正: 鮭鱒流刺網用計器（自記式網深さ計，自記式網地長さ計）とそれ等の実験結果について，漁船研究技報 8, (1956).

サケ稚魚の生態調査—VI.

サケ稚魚の摂餌行動に関する一知見*

小 林 哲 夫

(1960 年 2 月 29 日受理)

AN ECOLOGICAL STUDY ON THE SALMON FRY, *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM)—VI. NOTE ON THE FEEDING ACTIVITY OF CHUM SALMON FRY

Tetsuo KOBAYASHI**

An experimental observation has been done simply to understand the relationship between feeding activity and the general behaviour in chum salmon fry during seaward migration.

The result indicated that feeding activity of the fish is more active at night than in the daytime, beginning feeding activity vigorously when light intensity reduces to about 0 lux after sunset. This feeding activity of the fish seems to be restricted by light, as the movement of the fry during seaward migration is caused by darkness (KOBAYASHI[1); HOAR[2),3)]; NEAVE[5)]). However, the natural habit in the movement of the fish can be changed artifically by the continued supply of food in the daytime.

It is highly probable that the feeding activity of chum salmon fry is not to do with the gradual change of water temperature.

It was ascertained that the growth rate of the fry which were fed during the night (B Group) is greater than that of the fry fed in the daytime (A Group).

サケ稚魚 (*Oncorhynchus keta*) の降海行動に見られる日週変化，すなわち日没後，2, 3 時間の間の顕著な移動活動は主に光の消失と深い関係があることは小林 (1958)[1)], HOAR (1951, '53)[2),3)] の指摘するところである。一方，魚類の摂餌活動にも日週期性のあることは一般に認められているとうりである。したがつて光と游泳活動ならびに摂餌活動の関係を知ることはサケ稚魚の降海行動の機構を明らかにする手懸りとして重要なことと考えられる。このような見地から，朝，夕の給餌時間の相違によるサケ稚魚の摂餌行動と成長の良否について実験的な観察を試みた。

材料および方法

サケ稚魚: 降海移動の末期の自然生活を行なつていたサケ稚魚を捕集し (6 月 27 日)，実験開始まで水槽中で正常に飼育した。

水槽: 長さ 145cm, 巾 28cm, 深さ 18cm の木製水槽 2 コを用いた。

用水: ポンプ揚水による地下水を 1 分間約 20*l* の割合で各水槽に注入し，水深を 15cm に保つた。

実験: 実験は 7 月 2 日～8 月 2 日の 32 日間おこなつた。実験方法について 2 つの水槽にそれぞれサケ稚魚 40 尾を放し，1 群 (**A**: 昼間給餌群) には午前 9 時に給餌して午後 5 時にその残餌を取揚げ，他の群 (**B**; 夜間給餌群) には午後 5 時に給餌し，翌朝午前 9 時にその残餌を計量した。その他の条件について両群に対して全く同一にした。給餌量は稚魚の全重量のほぼ 1/6 の量を目安とし，**A** 群，**B** 群に等しい量を与えた。餌料は牛の生肝臓をすりつぶし，時計皿に計量して各水槽の排水部近くの一定場所に置いた。水温，気温，水中照度（水面下 5cm）はそれぞれ給餌時ならびに観察の際記録した。サケ稚魚の体長，体重は 7 月 2 日 (実験開始)，7 月 11 日，7 月 22 日ならびに 8 月 2 日にそれぞれウレタン麻酔の後計測した。

---

* 昭和 34 年 11 月北海道支部大会で発表した。

** 北海道さけ・ますふ化場 (Hokkaido Salmon Hatchery, Sapporo, Japan).

実験結果

実験当初，両群ともに稚魚の多くは昼間は槽内に置いた玉石の蔭かあるいは注水部に集り，あまり活発な游泳行動を示さない。そしてまた時には水面近く小群をなしている稚魚もわずかな刺戟に対してもきわめて敏感に反応する。しかし夕方暗くなるとほとんどの稚魚は排水部に集まることが観察された。

このような行動を示すサケ稚魚の摂餌行動は実験の結果，一般に昼間より，むしろ夕方から夜間にきわめて活発であることが知られ，そして摂餌行動の差異はその成長度にも明らかに示された。

まず摂餌行動について，摂餌活動の活発，不活発の度合を表わす一方法として，その残餌量から求めた摂餌率は Fig. 1 b に示された。図より知られるとおり，夜間給餌の **B** 群は7月20日（午後8時 30 分に給餌した）以外，全く残餌はなく，したがつてその摂餌率は100% の値が示された。これに対して，昼間給餌の **A** 群において実験当初はその摂餌率は 60〜70%，中頃（7月9日〜21 日）30〜70%，その後（7月22日〜27 日）60〜90%，そして実験終了時（7月28日〜8月2日）90〜100% という結果が示された。このように摂餌率の値の差により，昼，夜の稚魚の摂餌行動の相違が充分推察されるが，その給餌後の稚魚の摂餌状態についても明らかに相違が観察された。すなわち，夕方5時に給餌した **B** 群において水中照度（水面下 5.0 cm）が 0 lux（午後7時〜7時 30 分以後）前後になると，稚魚は玉石の蔭あるいは注水部から排水部の給餌場所に集り活発に摂餌する。そして2時間内外でその給餌量のほとんどが消費されることが常に観察された。しかしながら午後8時 30 分に給餌した7月20日には翌朝まで 35% の残餌量があつた。また，摂餌行動の最盛期には電燈を点じても（水中照度 0.3 lux）その刺戟に対しての反応は敏感でなく，ある程度の摂餌行動は継続した。

一方，昼間群においては実験当初，稚魚はわずかな刺戟に対してもきわめて敏感に反応し，容易に餌場に近寄らない。そして餌を取るにしても散発的に一，二の稚魚が餌を削るようにして摂餌して物陰に入る行動を示し，午前9時から午後5時までの給餌時間にもかかわらず，常に残餌が生じた。しかしながら3週間前後になると給餌直後でも若干の稚魚がすぐ餌場に現われるようになり，そしてまた人影，あるいはわずかの刺戟に対しても敏感に反応しなくなつた。そして実験終了時には水中に手を入れていて

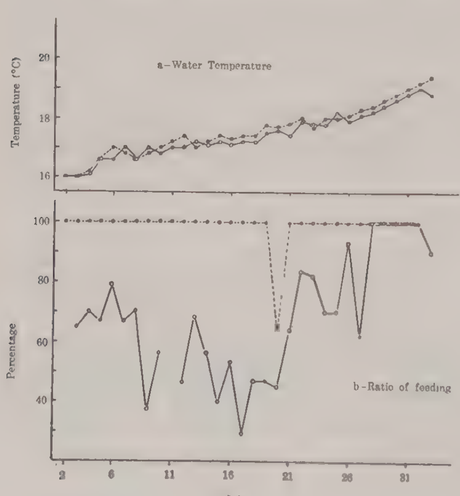


Fig. 1. Showing the ratio of feeding (b) and water temperature (a).
a. Water temperature; —— at 9.0 a.m., - - - at 5.0 p.m.
b. Ratio of feeding; —— A Group (in the daytime), - - - B Group (at night-time).

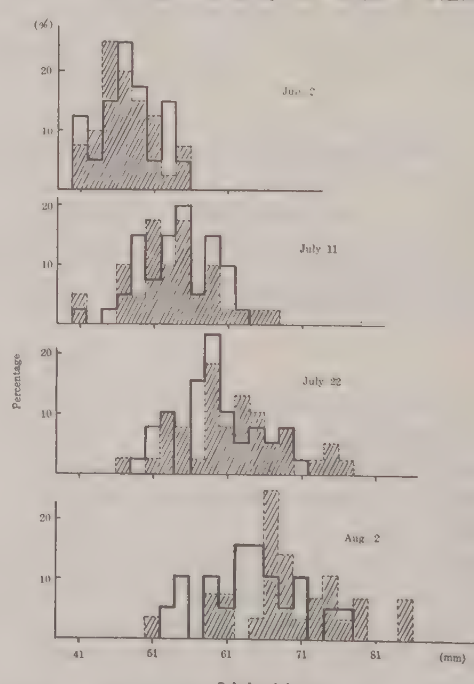


Fig. 2. Frequency distribution of body length of chum salmon fry employed in experiment.
A Group (in the daytime)
B Group (at nighttime)

も摂餌する稚魚も現われて，明らかに"慣れ"の現象が認められた。それと同時に摂餌率も高くなり90〜100%の値が示された。しかしながら夜間給餌群におけるごとく，むらがつて短時間に食い尽すといつた現象は観察されなかつた。

Table 1. Mean of body length (B.L.) and body weight (B.W.) of chum salmon fry employed in experiment.

Date	A Group (in the daytime)			B Group (at nighttime)		
	N	B. L. (mm)	B. W. (g)	N	B. L. (mm)	B. W. (g)
July 2	40	48.3±1.28*	1.02	40	47.7±1.23*	1.01
〃 11	40	54.5±0.83	1.40	40	53.7±1.87	1.44
〃 22	38	59.9±1.98	1.97	38	62.2±2.32	2.13
Aug. 2	19	64.8±3.20	2.63	28	70.4±2.94	3.33

Note; * 95% Confidence interval.

成長について，昼，夜の給餌群の成長の度合については Fig. 2, Table 1 に示された。Fig. 2, Table 1 に示されたとおり，実験開始時には夜間群（B 群）は昼間群（A 群）に比べて体長分布ならびに平均体長，平均体重は若干低い値を示している。そして 10 日後（7 月 11 日）においても体長については実験開始時と同様に夜間群は低い値を示している。しかし平均体重においては夜間群は昼間群より若干大きい値が示された。21 日後（7 月 22 日）にはその体長，体重はともに夜間群（62.2±2.32 cm, 2.13 g）は昼間群（59.9 ± 1.98 cm, 1.97 g）より大きい値となり，さらに 32 日後（8 月 2 日）にはその差は大きくなり，明らかに夜間給餌群は昼間給餌群より成長が良いことが知られた。

水温，水中照度について，午前 9 時，午後 5 時の水温測定結果は Fig. 1 の a に示された。水温の変化は気温の変化に応じて変化し，1 日の水温変化は 0〜0.4°C であつた。実験開始時にはその水温は 16°C 内外であつたが夏季の気温上昇に伴い水温も漸進的に上昇し，実験終了時には 19.4°C とサケ稚魚に対して比較的高い水温となつた。また水中照度については午前 9 時には 34.0〜8.5 lux，午後 5 時には 18.0〜1.0 lux とその日の天候によつて明るさが変化し，そして日没後，午後 7 時〜7 時 30 分には水中照度は 0 lux となつた。

考　　察

サケ稚魚の摂餌行動は昼間より夜間において活発であり，しかも日没後 1〜2 時間最も著しいことが知られた。しかしこの実験の時期はサケ稚魚の正常の降海移動時期よりも若干遅れ，さらに水温の著しい高い条件の下で行なつたため，降海期の環境条件に比べて不自然な実験結果であることは否めない。このようなことを考慮して前述の実験結果を再び一括して考察して見たい。

まず夜間給餌群（B 群）については日没後，きわめて活発に摂餌することが知られ，稚魚の総体重のほぼ 1/6 の給餌量もその水中照度が 0 lux となつてから 1〜2 時間でほとんど消費することは通常，養魚に関する投餌量の基準と比べてサケ稚魚の摂餌力の旺盛さがうかがわれる。しかし，たまたま午後 8 時 30 分に給餌した 7 月 20 日には翌朝まで残餌（摂餌率 65%）が見られた。このことについては 1 回のみの観察であるが通常，降海期のサケ稚魚の日週期活動は日没後から午後 9 時頃まで最も活発であることと[1),4)]考えあわせきわめて興味ある暗示が得られる。

水温と摂餌行動について，一般にサケ稚魚の生活適温よりかなり高いと見做される 17.0〜19.4°C においても夜間給餌群の摂餌行動の衰減が全く認められなかつたことはその摂餌行動は漸進的に上昇する水温変化[6)]に対してほとんど影響されないものと推察される。

一方昼間給餌群（A 群）において，その摂餌行動は夜間のそれら（B 群）と全く異り，むらがつて摂餌することなく実験の後期を除いて常に残餌を生じ，夜間給餌群よりその摂餌行動は不活発であることが明らかである。なお，給餌は午前 9 時から午後 5 時まで行なつたが，もし昼，夜常に摂餌でき得る状態におかれたならば稚魚の摂餌率は前述の結果よりさらに低い値を示す可能性も推測される。このような昼間群の摂餌行動の不活発についてはサケ稚魚の行動が光によつて直接的あるいは間接的に規制されると考えられていること[1),2),3)]から，その不活発は昼間の明るさが大きく起因するのかも知れない。このようなサケ稚魚が水温

17～18°C に上昇した7月6日～7月 20 日の間に示された摂餌率の低下は光の制約とサケ稚魚に対して比較的高い水温である不自然な条件が相乗的に作用した結果でないかと考えられる。しかるに実験終了期にはさらに高い水温条件 (19°C 内外) にもかかわらず摂餌率の上昇が見られていることは恐らく継続的な給餌という条件に稚魚は慣らされて，光あるいは他の刺戟に対する反応もにぶり，夜間給餌群と同様，その水温上昇も摂餌行動にはほとんど影響しなくなつたものと考えられる。このような人為的な取扱いによるサケ稚魚の光ならびに刺戟に対する反応の逓減は NEAVE (1955)[5] が天然産のカラフトマス (*O. gorbuscha*) の稚魚は光に対して強い陰性趨光性を示すが，人工孵化稚魚は顕著な陰性趨光性を示さないと報告していることと考えあわせきわめて興味ある問題を提供する。

また夜間給餌群 (**B** 群) と昼間給餌群 (**A** 群) の成長度に明らかな差異が見いだされたことは，両者の摂餌活動の活発，不活発に深く起因したものと考えられる。すなわち実験当初は昼間群 (48.3 ± 1.28cm, 1.02g) は夜間群 (47.7 ± 1.23cm, 1.01g) よりその平均体長，体重がともに若干大きい値を示すが，21 日後には平均体長，体重はともに夜間群 (62.2 ± 2.32cm, 2.13g) の方が昼間群 (59.9 ± 1.98cm, 1.97g) より大きい値を示し，実験終了時にはその差が大きくなつた。摂餌率とその成長度との直接な関係は明らかでないが，実験終期に示された成長度合の相違は明らかに初期から中期の摂餌活動の差に起因するものと考えられる。またこのことは魚の幼期の飼育管理においてその魚の本来の習性を研究することがいかに重要であるかを示すものと思う。

以上昼，夜における稚魚の摂餌行動について実験的に観察を試みたが，通常，自然生活のサケ稚魚（昼間採集）の胃袋中には多数の底棲性の水棲昆虫が観察され，今回の実験結果とは必ずしも一致しない。このことについては自然生活における諸条件と実験におけるそれらとの相違によるものと考えられるが，今後の研究にまたなければならない。しかし今回の実験結果，昼，夜の摂餌行動に明らかな相違が見いだされたことから自然生活においても，サケ稚魚の昼，夜の摂餌行動に何かしらの相違が推測され，そしてまた降海期の稚魚の日週期活動とその索餌行動とにきわめて深い関連性のあることが暗示される。

なお，本研究結果を報告するに当りいろいろ助力された北海道さけ・ますふ化場木村義一ならびに佐藤美津江の両氏に対して，また御助言，御校閲の労をとられた北大水産学部久保達郎助教授に対し深く御礼申し上げる。

要　　約

降海期におけるサケ稚魚の日週期活動をその摂餌行動の面から実験的に考察した。

サケ稚魚は夕刻，水中照度が 0 lux となつてからきわめて活発な摂餌行動を行ない，昼間，明るい時には積極的な摂餌を行わない。しかしながらそのような稚魚も継続的な昼間給餌により習慣づけられその習性もある程度変えられることが知られた。そして漸進的に上昇する水温変化 (16.0～19.4°C) はその摂餌行動にほとんど影響を与えない。夜間給餌の稚魚 (**B** 群) は約1カ月後において昼間給餌群 (**A** 群) よりも著しく良好な成長を示した。降海期のサケ稚魚の日週期活動は稚魚の索餌行動ともきわめて深い関連性のあることが暗示された。

文　　献

1) 小林哲夫: 北海道さけ・ますふ化場研究報告, **12**, 21～30 (1958).
2) HOAR, W. S.: J. Fish. Res. Bd. Canada, **8**, 241～263 (1951).
3) ――――: Biol. Reviews, **28**, 437～452 (1953).
4) 小林哲夫: 北海道ふ化場報告, **8**, 81～85 (1953).
5) NEAVE, F.: J. Fish. Res. Bd. Canada, **12**, 369～374 (1955).
6) BRETT, J. R.: Quart Rev. Biol. **31**, 75～87 (1956).

魚肉ソーセージの腐敗細菌に関する研究—IV.
好気的および嫌気的条件下における *Bacillus* の揮発性酸および揮発性塩基の生成作用

赤 松 幹 夫

(1960 年 2 月 8 日受理)

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON THE SPOILAGE OF FISH SAUSAGES—IV. THE FORMATIONS OF VOLATILE ACID AND VOLATILE BASE BY *BACILLUS*

Mikio AKAMATSU*

The author reported, in the previous paper, that certain kinds of *Bacillus* can grow even in the medium of oxidation-reduction potential as low as −300 m volt.

Attempts are made in the present experiment to elucidate the effect of oxygen tension in the culture on the formations of volatile acid and volatile base for *Bacillus*. *Bac. subtilis* S 14 and *Bac. coagulans* S 11, which have been isolated from fish sausage, are cultured under three different conditions (aerated, aerobic stationary and anaerobic) and both volatile acid and base formed are determinated by the partition chromatography using a silica gel column and the usual aeration method, respectively.

The results obtained are shown in Figs. 1∼8 and Tables 1∼2 and may be summarized as follows:

1) Both *Bac. subtilis* and *Bac. coagulans* could produce volatile acid under the three different conditions, and the more the oxygen supply in cultural media the larger the amount of volatile acid was produced. *Bac. subtilis* could produce volatile base even under the anaerobic condition and it produced actively as the amount of oxygen in media increased, whereas *Bac. coagulans* hardly produced in any case.

2) Volatile acid formed was found to consist of acetic acid and formic acid, and besides to these acids butyric acid was detected only in the case of the culture of *Bac. subtilis* under the aerobic condition.

3) Volatile acids formed in the cultural media varied both in amount and in kind as the lapse of time. In the case of *Bac. subtilis*, the amount of acetic acid increased remarkably, whereas that of formic acid increased more rapidly than that of acetic acid in the initial stage, but then turned to decrease and finally tended to zero. This feature was much pronounced in the case of the aerated condition. In the case of *Bac. coagulans*, both amount of acetic and formic acids increased continuously and reached the stationary state where the ratio of those amount became constant. The ratios (Formic/Acetic) at their stationary states were found to be 1/9, 3/7 and 6/4 in the cases of the aerated, aerobic stationary and anaerobic conditions, respectively.

好気性有芽胞細菌である *Bacillus* が嫌気的にも発育しうることはすでに古くから知られ[1)2)]，ことにその胞子の発芽は培養時の酸素条件に影響されないことが *Bac. anthracis*, *Bac. subtilis*, *Bac. megatherium* について確かめられている[3)]。

* 京都大学農学部 (Fac. Agr., Kyoto Univ.).

著者は前報[4]において魚肉ソーセージから分離した3種の *Bacillus* の発育と培養時の酸素条件との関係を吟味し，それらの嫌気的条件下における発育の抑制は菌種によつてそれぞれ異なるが Eh-300 m volt 前後の低電位培地においても単に発芽が抑制されないばかりではなく栄養体発育もしうる菌種のあることを報告した。しかし *Bacillus* は本来好気性細菌であるから嫌気的にはたとえ発育しえたとしてもその代謝作用は好気的条件下における場合とは異なることが予想される。魚肉ソーセージが悪変する際に揮発性塩基の増大を見ない場合が多いのに反して酸化をも含めて酸敗の現象が多く観察されるという内山ら[5]の研究結果は一部上述の理由によることを暗示している。したがつて *Bacillus* の嫌気的な代謝を研究することは魚肉ソーセージが完全包装食品であることと関連して重要な問題である。

本報は魚肉ソーセージから分離した2種の *Bacillus* を好気的および嫌気的条件下で培養し，その際に生産される揮発性塩基と揮発性酸についての比較検討であるが，とくに生成揮発性酸の分析にその主眼をおいた。

実験方法

I. 供試菌: 1) *Bacillus subtilis* S 14
2) *Bacillus coagulans* S 11

II. 培養基: ペプトン 10 g，肉エキス 10 g，食塩 5 g，水 1 *l*，pH 7.0. 前記組成を有する培養基を 100 m*l* 容フラスコに 48 m*l* 宛分注し，10 lbs で滅菌し，別に滅菌しておいた 25% ブドウ糖溶液を 1 m*l* 宛加えた。なお嫌気培養に用いる培養基には初期 Eh をできるだけ低くする目的で培養直前に Vitamin C 溶液 1 m*l* (100 mg Vitamin C を含む) をさらに加え全量を 50 m*l* にした。もちろん好気培養の培養基にはこれと同容積の滅菌水を加え全量を 50 m*l* となし基質濃度を両者等しくした。

III. 培養基: 各培地に前報[1]記載のごとく調製した各供試菌の胞子懸濁液の一定量をうえ，通気培養，好気的静置培養および嫌気培養をそれぞれ 35°C で行つた。各培養方法は前報[1]記載の通りである。

IV. 定量法: pH はガラス電極 pH 計で，揮発性塩基は常法の通気法により定量した。揮発性酸はシリカゲルカラムを用いてクロマトグラフィ[6]により定量したが，その方法はつぎのごとくである。

i) クロマト試料の調製　細菌培養液 20 m*l* に 25% $ZnSO_4$ 1 m*l* を加え，ついでガラス電極 pH 計を使用して pH 7.6～7.8 になるまで 1 N NaOH で滴定した後蒸溜水を加えて 25 m*l* の恒量となし 6000 rpm で遠心操作により細菌培養液の clarification を行う。かくしてえた上澄液 20 m*l* に 10 N H_2SO_4 1 m*l*, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 15 g を加えて水蒸気蒸溜を行い，溜出液が 200 m*l* に達するまで蒸溜する。これを 0.05 N NaOH で中和後温浴上で濃縮乾固し，さらに一昼夜デシケーター中に放置したものを一定量の 0.21 N HCl に溶かしクロマト用試料とした。

ii) シリカゲルカラムの調製　5 g の dry silicic acid* に 0.01 N HCl 0.34 m*l* を加え均一になるように激しく混和する。ついで 0.01 N HCl で飽和したクロロホルムを加え軽く処理した後，Dia 15 mm のクロマト管**に充塡する。その上に円形沪紙をはさみ，さらに 0.6 g の dry silicic acid を今度は単に上述のクロロホルムで軽く処理しただけで重層し，再び円形沪紙をその上に圧着した。一度使用したカラムは上層の silicic acid を新しく交換し，同じく上述のクロロホルムで洗うことにより数回再使用が可能である。

iii) 揮発性酸のクロマトグラフィ　試料をカラムに添加吸着させた後，1～2 m*l* のクロロホルム***を加え Fig. 1 に図示した要領で空気圧を加て試料をカラムに充分吸収させた後に溶媒を加え溶出クロマトグラフィを行つた。展開溶媒は最初クロロホルム***ついでブタノール 5% を含むベンゼン***，最後にブタノール 10% を含むベンゼン***を使用した。溶出液は CO_2 free の気流中で指示薬溶液（フェノールレッド）

* Mallinckrodt 社製の silicic acid を用いた。
** カラム再生のときの上層の Silicic acid の交換を容易にするため上下に分けられるクロマト管を考案した。
*** 展開溶媒はすべて 0.01 N HCl で飽和しておく。

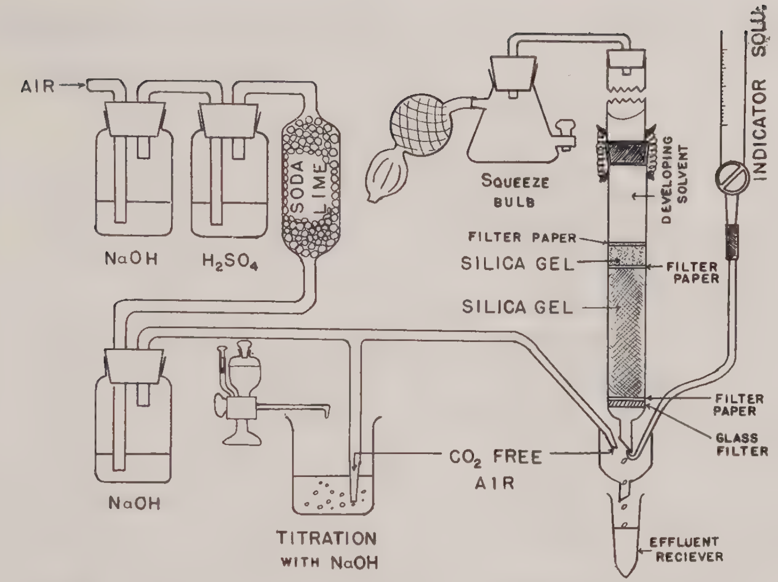


Fig. 1. The apparatus for determination of volatile acid by the partition chromatography.

を含めて 5 m*l* 宛分画した。なお溶出速度は毎秒 2〜3 滴となるように空気圧を調節した。各分画液中の揮発性酸は CO_2 free の気流を噴流させながら水平ミクロビュレットを使用して 0.05 N NaOH で滴定定量した。 Fig. 1 に示すように溶媒溶出に際し溶媒 9 滴に対し指示薬 1 滴が滴下するように調節しておくと指示薬の色調変化から揮発性酸の溶出を明瞭に認知することができ極めて便利である。

本法による揮発性酸（酪酸，プロピオン酸，酢酸，ギ酸の混合試料）の分離溶出曲線の 1 例が Fig. 2 である。

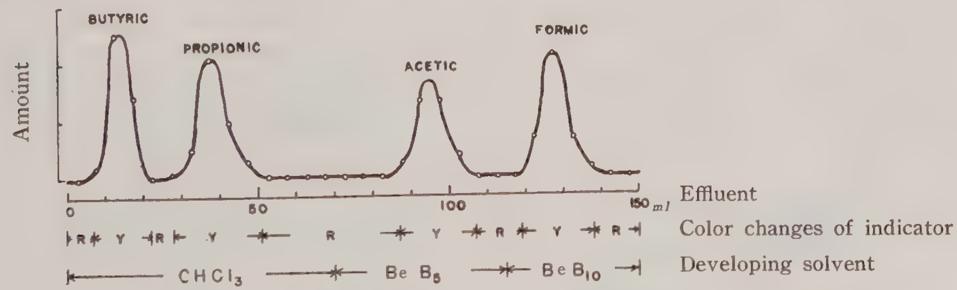


Fig. 2. Separation of a mixture of butyric, propionic acetic and formic acids with silica gel column.
R: red, Y: yellow, $CHCl_3$: chloroform saturated with 0.01 N HCl, BeB_5: Mixed 380 m*l* of benzen with 20 m*l* of *n*-butanol and saturated with 0.01 N HCl, BeB_{10}: Mixed 360 m*l* of benzen with 40 m*l* of *n*-butanol and saturated with 0.01 N HCl.

実験結果およびその考察

I. *Bacillus subtilis* S 14 による揮発性塩基および揮発性酸の生成

本菌の増殖に伴つて培地中に生成される揮発性塩基，揮発性酸の増加および培地の pH の変化は Table 1 に示すごとくであり，培養条件が好気的であればあるほど生成される揮発性塩基量および揮発性酸量は大で

Table 1. The formations of volatile base and volatile acid by *Bac. subtilis* S 14.

	Condition	Incubation time (Days)				
		0	15 hrs.	1	2	3
pH	Aerated culture	7.00	6.35	6.80	7.80	8.30
	Aerobic stationary culture	7.00	—	5.85	7.10	8.05
	Anaerobic culture	7.00	—	7.00	5.10	5.10
Volatile base-N (mg/10 ml of the medium)	Aerated culture	0.66	1.36	3.39	5.74	7.66
	Aerobic stationary culture	0.66	—	1.22	3.25	4.37
	Anaerobic culture	0.66	—	0.66	1.22	1.68
Volatile acid (meq./10 ml of the medium)	Aerated culture	0.004	0.021	0.227	0.304	0.462
	Aerobic stationary culture	0.004	—	0.042	0.166	0.231
	Anaerobic culture	0.004	—	—	0.023	0.083

ある。また培地の pH の変化は前報[4]においても指摘したごとく嫌気的培養においては好気的培養の場合と異なり酸性に低下したまま pH の上昇は見られない。内山ら[5]は *Bacillus* の嫌気培養で培地の pH が低下しやすいのは嫌気状態では糖代謝的な作用が増大するのに対して NH_3 形成が著しく阻害されるためであるとしているが，本菌の場合揮発性塩基の生成に対する相対的な揮発性酸の生成蓄積は培養が嫌気的であるときに好気的な場合にくらべてとくに著しいとは認められないから嫌気培養で pH が低下するのは揮発性酸以外の酸の生成を併せて検討しなければ分らない。

つぎに培地中に生成蓄積された揮発性酸の種類は Fig. 3, Fig. 4 および Fig. 5 に示した各溶出曲線から明らかなごとく好気的条件下では酪酸，酢酸およびギ酸であり嫌気的条件下ではこのうち酪酸の生産を欠いている。またいずれの培養法の場合もプロピオン酸は検出されなかつた。Puziss[7] も *Bac. anthracis* および *Bac. cereus* の嫌気的なブドウ糖代謝においては酪酸は生成されず，酢酸とギ酸が生成することを確めている。本実験においては使用培地の性質上その生成揮発性酸の基質を明らかにしえないが，恐らく添加ブドウ糖を基質とする場合が多いと思われるから嫌気的に酪酸を生成しえないのは *Clostridium* などで知られている焦性ブドウ酸からアセト酢酸を経て酪酸に至る経路[8]が嫌気的には阻害を受けるのかもしれない。しかし，ブィヨン中にはアミノ酸を含むから，もし好気的に生成される酪酸の基質が糖以外のアミノ酸に由来するのであれば，その経路[9]が嫌気的に阻害されるのであろう。

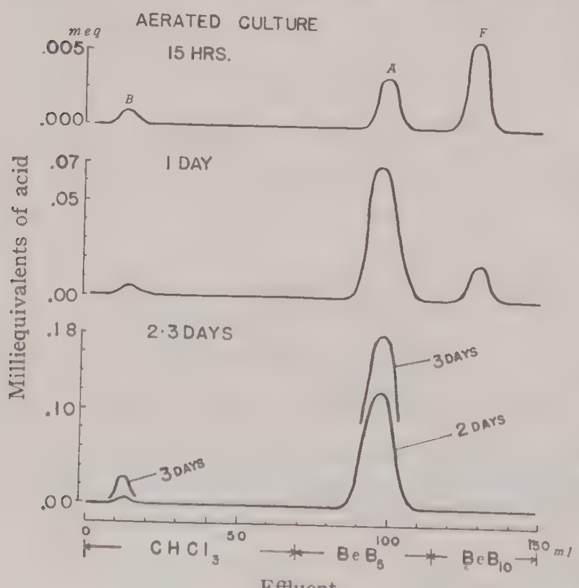


Fig. 3. Chromatographic analysis for volatile acid produced in 10 ml of the medium by the aerated ctlture of *Bac. subtilis* S 14. B: butyric acid, A: acetic acid, F: formic acid. (See Fig. 2 for the solvent)

つぎに注目すべきは，培地中に生成される揮発性酸はいずれにしても細菌の代謝過程における中間生成物であるから，それらの相対的な量が各培養法によつてそれぞれ時間とともに変化することである。すなわち培養初期

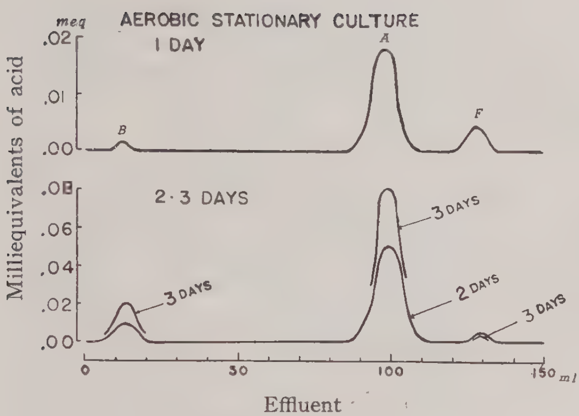


Fig. 4. Chromatographic analysis for volatile acid produced in 10 m*l* of the medium by the aerobic stationary culture of *Bac. subtilis* S 14.

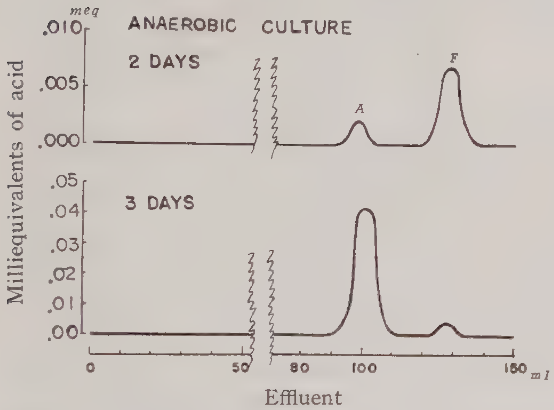


Fig. 5. Chromatographic analysis for volatile acid produced in 10 m*l* of the medium by the anaerobic culture of *Bac. subtilis* S 14.

にはいずれの培養法によつても酢酸量にくらべてギ酸量が多い傾向がみられるが，その後ギ酸の蓄積は殆んどなく，時間の経過とともにギ酸に対する酢酸の量が著しく増大する。この傾向は培養が好気的であるほど顕著であつて，とくに通気培養にあつては2日目以後にはもはやギ酸は検出されなくなる。

このようにギ酸が蓄積されないのはギ酸が生成されなくなるのではなく，生成されたギ酸はその後 formic hydrogenlyase により CO_2 とガス状 H_2 となるか，あるいは formic dehydrogenase により CO_2 に酸化されてしまう[8]のが普通であるから本菌ではこの分解酵素系の活性が強く，一定時間後にはギ酸の生成より分解の方が速くなるためと考えるのが妥当であろう。この考え方からすると実験結果はギ酸の分解は好気的であるほど速やかであることを示している。

また培養初期においてギ酸が酢酸より多い傾向があるのは phosphoroclastic reaction[8] において酢酸の生成は焦性ブドウ酸から Co-A の存在でアセチル-Co-A の燐酸化を経るためにいくらかギ酸の生成が先行するのではなかろうか。

II. *Bacillus coagulans* S 11 による揮発性塩基および揮発性酸の生成

本菌の増殖に伴つて培地中に生成される揮発性塩基，揮発性酸の増加および培地の pH の変化は Table 2 に示すごとくであつて，いずれの培養法

Table 2. The formations of volatile base and volatile acid by *Bac. coagulans* S 11.

Condition		Incubation time (Days) 0	1	2	3	4	8
pH	Aerated culture	7.00	6.80	5.20	4.70	—	—
	Aerobic stationary culture	7.00	7.00	6.70	5.60	5.05	—
	Anaerobic culture	7.00	—	7.00	—	6.65	5.00
Volatile base-N (mg/10 m*l* of the medium)	Aerated culture	0.80	0.66	0.87	0.94	—	—
	Aerobic stationary culture	0.80	0.80	1.01	1.22	1.15	—
	Anaerobic culture	0.80	—	0.80	—	0.94	1.36
Volatile acid (meq./10 m*l* of the medium)	Aerated culture	0.004	0.014	0.197	0.244	—	—
	Aerobic stationary culture	0.004	0.004	0.034	0.091	0.117	—
	Anaerobic culture	0.004	—	0.011	—	0.042	0.101

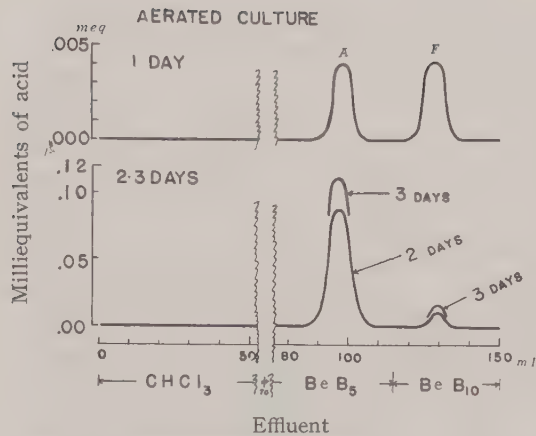


Fig. 6. Chromatographic analysis for volatile acid produced in 10 m*l* of the medium by the aerated culture of *Bac. coagulans* S 11. B: butyric acid, F: formic acid. (See Fig. 2 for the solvent)

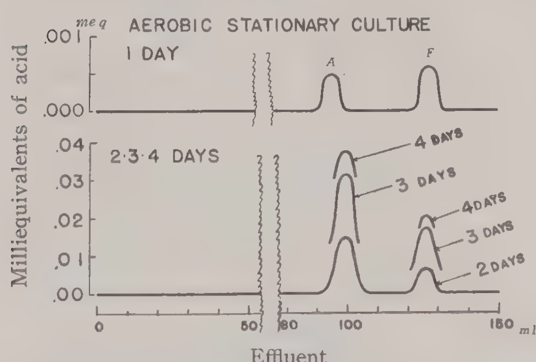


Fig. 7. Chromatographic analysis for volatile acid produced in 10 m*l* of the medium by the aerobic stationary culture of *Bac. coagulans* S 11.

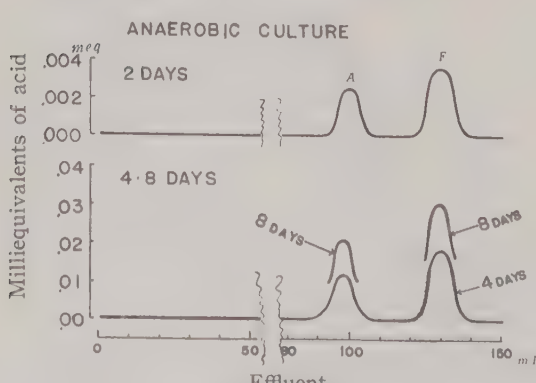


Fig. 8. Chromatographic analysis for volatile acid produced in 10 m*l* of the medium by the anaerobic culture of *Bac. coagulans* S 11.

によつても揮発性塩基の増加は僅かであり，通気培養ではむしろ培養初期に減少の傾向さえみられる。また揮発性酸の生成は培養が好気的であるほどその生成量も最も多く，したがつて pH の低下も著しい。

つぎに生成揮発性酸の種類は Fig. 6, Fig. 7 および Fig. 8 に示した各溶出曲線から明らかなごとく，いずれの培養法によつても酢酸とギ酸のみであり，酪酸，プロピオン酸は全く検出されない。酢酸とギ酸の生成量を比較すれば培養初期にはどの培養法でもギ酸が酢酸より多い傾向がみられるのは *Bac. subtilis* S 14 の場合と同じである。しかし本菌の場合ではギ酸は通気培養においてさえいくらか蓄積され，かつ培養2日経過以後においては酢酸・ギ酸の相対的な量が各培養法によつてほぼ一定の平衡値を示す。このギ酸/酢酸の比は通気培養，好気的静置培養および嫌気培養によつて，それぞれ 1：9, 3：7, および 6：4 である。しかしこのギ酸・酢酸の量的平衡も生成酸が中間生成物であることを考えれば基質の減少とともに当然破れるであろうし，また培養時の酸素量が多いほどギ酸量に対する酢酸量が多いのはギ酸の分解が好気的であるほど速やかであることを示し，本菌のギ酸酢酸生成反応はに *Bac. subtilis* S 14 よつてえられた結果と本質的には相違はない。ただ嫌気培養にあつては常にギ酸が酢酸にくらべてより多く蓄積されているのは本菌のギ酸分解酵素系が嫌気的には著しく阻害されるのか，あるいは酢酸生成が嫌気的にはいくらか阻害されるのであろう。

以上の実験から *Bacillus* の代謝作用は菌の発育時の酸素量の差異によつてかなり異ることがわかる。したがつて *Bacillus* が主働菌として働くような嫌気性的食品ではその腐敗の様相は一般の水産食品の場合とは異ることが予想される。前述のごとく嫌気的条件下では酪酸は生成されないこと，あるいは生成したギ酸の消失が抑制もしくは阻害されることなどはただちに腐敗臭と関係してくるであろう。また好気性細菌の嫌気的代謝が本質的に好気的代謝と相違がない場合にもその作用は嫌気的には著しく抑制されるからケーシングは単に二次的な外部汚染

を防除するのに役立つだけではなく，製造後の残存細菌のうち嫌気性細菌の数が少数であれば魚肉ソーセージの貯蔵性に大いに寄与しているわけである。

最後に供試菌のうち *Bac. subtilis* S 14 は腐敗した魚肉ソーセージの多くから分離され該食品の腐敗細菌としてはとくに重要な菌種の 1 つであることを先に指摘した[10]が I の結果はその分解力が含窒素化合物あるいは糖に対しても甚だ強力であることを物語つており，また *Bac. coagulans* S 11 は細菌数が増加している割合には顕著な悪変が感ぜられないような魚肉ソーセージからも多く分離される菌種の 1 つであつて[10]，その分解力は II に示したごとく揮発性塩基生成作用は微弱であるのみならず揮発性酸の生成も *Bac. subtilis* S 14 にくらべれば少なく，一般的にその腐敗力は弱いといえよう。魚肉ソーセージでは製造後の外部汚染が殆んどないから残存細菌の数とともにその種類がその製品の貯蔵性を決定する重要な因子といえる。

終りに，本研究にあたり終始御熱心な御指導を賜わり，かつ論文の校閲をしていただいた当教室木俣正夫教授に深甚な謝意を表する。

要　　約

魚肉ソーセージから分離した 2 種の *Bacillus*—*Bacillus subtilis* S 14, *Bacillus coagulans* S 11—を供試菌として，それぞれ通気培養，好気的静置培養および嫌気培養を行い，培地中に生成された揮発性塩基および揮発性酸を定量し，つぎの結果をえた。

1. *Bac. subtilis* S 14 による揮発性塩基の生成は培養が好気的であるほど，その生成量は多いが，*Bac. coagulans* S 11 では培養法の如何によらずその生成は極めて微量である。

2. 供試菌のいずれの場合でも揮発性酸の生成量は培養が好気的であるほど多い。また生成酸の種類は *Bac. subtilis* S 14 では好気的条件下においては酪酸，酢酸およびギ酸であり，嫌気的条件下においては酢酸およびギ酸のみであるが，*Bac. coagulans* S 11 では好気的条件下でも嫌気的条件下でも酢酸とギ酸のみである。

3. 生成酸の組成は *Bac. subtilis* S 14 では培養時間の経過とともに変化し，とくにギ酸量に対する酢酸量の増大が著しく，かつこの変化は培養が好気的であるほど顕著である。*Bac. coagvlans* S 11 では培養初期においてはほぼ同様の傾向が見られるが一定時間経過後においてはギ酸と酢酸の量的関係が通気培養，好気的静置培養および嫌気培養によつてそれぞれ 1 : 9，3 : 7 および 4 : 6 の平衡値を示すようになる。

文　　献

1) D. BUSHNELL: *J. Bacteriol.*, **7**, 283～300 (1922).
2) H. K. KING and J. H. STEIN: *J. Gen. Microbiol.*, **4**, 48～52 (1950).
3) N. ROTH and D. A. LIVELY: *J. Bacteriol.*, **71**, 162～166 (1956).
4) 赤松幹夫: 本誌，**25**, 554～560 (1959).
5) 内山　均・横関源延・本橋光太郎: 本誌，**24**, 370～377 (1958).
6) A. C. NEISH: **Report No. 46-8-3**, 2nd Revision, National Coun. Canada, (1952).
7) M. PUZISS and S. CRITIENBERG: *J. Bacteriol.*, **73**, 48～51 (1957).
8) E. L. OGINSKY and W. W. UMBREIT: An Introduction to Bacterial Physiology, p. 219～247, (1954), W. H. FREEMAN CO., SANFRANCISCO.
9) 木俣正夫: 食品保蔵学 p. 121, (1948), 朝倉書店，東京.
10) 赤松幹夫: 本誌，**25**, 549～553 (1959).

魚肉ソーセージの腐敗細菌に関する研究—V.

貯蔵中の揮発性酸生成の特異性について

赤 松 幹 夫

(1960 年 2 月 8 日受理)

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON THE SPOILAGE OF FISH SAUSAGES—V. THE FORMATION OF VOLATILE ACID IN THE COURSE OF THE SPOILAGE OF FISH SAUSAGE

Mikio Akamatsu*

As mode of spoilage of fish sausage differs from other foodstuffs such as fresh fish meat and "*Kamaboko*", in order to estimate the freshness of the former the established method for the latter can not give the right answer.

Recently, it has been suggested by several workers that the freshness of fish sausage correlate with the acidity of the meat.

In the previous paper, the author studied on the formation of volatile acid by a few kinds of *Bacillus* and reported that the volatile acid formed under an anaerobic condition is somewhat different in amount and in kind from that under an aerobic condition.

The present study was carried out to clarify the formation of volatile acid in the course of the spoilage of fish sausage and to find a proper method applicable to estimate the freshness of fish sausage.

Results obtained are shown in Figs. 1~5 and Table 1 and may be summarized as follows:

Formic and acetic acids are formed in progress of the spoilage, and the amount of the former increases more remarkably than that of the latter. This may be caused by an anaerobic condition maintained by the casing. On the contrary, if the meat is preserved under such an aerobic condition as the casing being removed, the amount of acetic acid increases remarkably as compared with that of formic acid. Thus it may be reasonable to consider that formic acid produces actively under the anaerobic condition. Butyric acid is also detected when the meat is spoiled aerobically, but not anaerobically.

In the meat of fish sausage on markets the total amount of volatile acid as well as the amount of acetic acid is considerably large even immediately after being manufactured, and a marked difference in their amounts was observed among them. Therefore, no method determining the total amount of volatile acid and the amount of acetic acid can be used for estimating the freshness of fish sausage, but the method determing the amount of formic acid should be available for the purpose.

If butyric acid is detected in fish sausage on markets, this may be attributed to the degradation of raw materials.

魚肉ソーセージは製品の性質上，その腐敗に関与する細菌の種類，および細菌の発育，代謝の環境条件が特異的であり，その腐敗過程が一般の無包装水産食品とは異るから本製品の鮮度は揮発性塩基の定量や細菌数の測定，その他これまで用いられている各種の鮮度測定では正しい判定ができ難い[1),2)]。したがってこの食品の鮮度を判定する適切な方法を案出することは単に食品衛生学的立場からだけではなく，この食品の技術的な改良を行なうためからもはなはだ重要である。清水ら[3)]は多数試料の分析から，また，内山ら[4)]は*Bacillus*の嫌気状態における生化学的活性からそれぞれ本食品の悪変と生成酸量には相関があることを示唆

* 京都大学農学部 (Fac. Agr., Kyoto Univ.).

している。したがつて本製品の貯蔵中における酸生成の様相を明らかにすることは非常に興味深い。

著者は前報[5]において魚肉ソーセージから分離した *Bacillus subtilis* S 14 および *Bacillus coagulans* S 11 による揮発性酸の生成作用をしらべ生成蓄積される酢酸とギ酸の相対量の変化のようすが培養時の酸素条件によつて著しく異ることや好気的条件下では酪酸を生成しても嫌気的条件下では酪酸を生成しないことなどを明らかにした。これはブドウ糖添加のブイヨン中で純粋培養を行つたときの結果であるにしても魚肉ソーセージはその常在細菌叢 (normal bacterial flora) が主として *Bacillus* であり，またケーシングによつてどちらかといえば嫌気的条件が保たれているから，その貯蔵中における揮発性酸の生成は一般の水産食品の場合とは異ることはもちろん，本食品が無包装の場合とも異ることを予想させる。

著者は以上の観点から魚肉ソーセージの貯蔵中に生成する揮発性酸の特異性を検討しあわせてその生成量と鮮度との考察を行ない，ある程度の結果が得られたのでここに報告する。

実 験 方 法

I. 供試材料: 供試材料はとくに実験室で調製したものを用いた。その原料配合および製造条件を示すとつぎのごとくであつてとくにこの試料には防腐剤を含まない。

マグロ肉 650g; キグチ 900g; 澱粉 180g; 食塩 54g; 蔗糖 36g; コショウ 5g; 丁字 1g; オイルパイス 1g; ソーセージアロマ 1ml; 豚脂肉 100g; 氷　適量; 肉詰量約 30g; 加熱条件 85°C, 40 分。なお製造後の外部からの二次的細菌汚染を完全に防ぐためケーシングの結索はとくに慎重に行ない両端をそれぞれ 2 箇所づつ二重結びをした。

II. 貯蔵条件: 上記試料を 2 群に分ち 1 群はそのまま 30°C で貯蔵した。他の 1 群はケーシングのまま昇汞水に 3 分間浸漬後，数回滅菌水で外部をよく洗つた後，無菌箱中で無菌的操作によりケーシングを除去し，大型シャーレに入れ乾燥を防ぐよう配慮*して 30°C で貯蔵した。以下後者の 1 群を単に好気的な貯蔵と称する。

III. 定量法: 一定時間ごとに試料をとりだし肉量の倍量の蒸溜水を加えてホモジナイズ後，沪過してその沪液につき pH，揮発性塩基および揮発性酸を定量した。これらの各定量法はいずれも前報[5]記載のごとくである。なお試料水分は貯蔵時間の経過とともに変動するがその量は僅少であり特に考慮の必要が認められないのですべて水分 65% として計算した。

実験結果とその考察

実験 I. 貯蔵中の揮発性酸および揮発性塩基の生成

貯蔵中の揮発性酸，揮発性塩基の増加および pH の変化を Fig. 1, Fig. 2 に示した。Fig. 1 は好気的に，Fig. 2 はそのまま貯蔵した場合の結果である。好気的な貯蔵においては 1 日目には著変は認められなかつたが 2 日目には完全な腐敗の様相を呈した。ケーシングされた状態では 4 日目ま

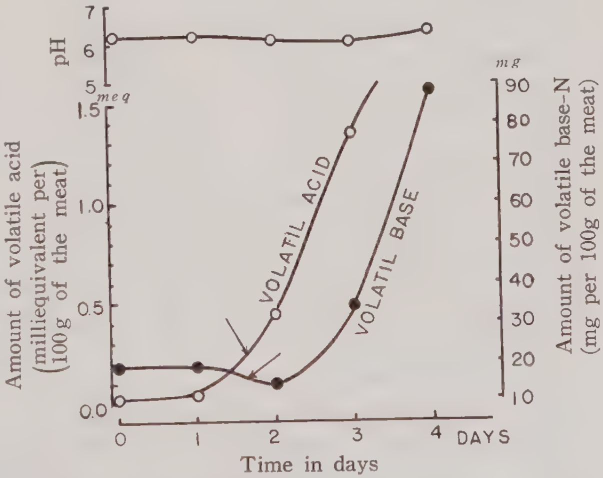


Fig. 1. The change in pH and the increases of volatile base-N and volatile acid in the meat of fish sausage stored at 30°C under the aerobic condition maintained by the casing is removed. The arrows indicate the point reaching unsuitable state as a food.

* シャーレを底部に水を入れた大型デシケーター容器中で貯蔵した。

で肉眼的にはほとんど変化は観察されず，6日目目にはじめて褪色，肉質の弾力消失などの初期腐敗現象が現われ9日目に腐敗期に入つていると判断された。すなわち好気的には腐敗の進行がきわめて速やかであつた。

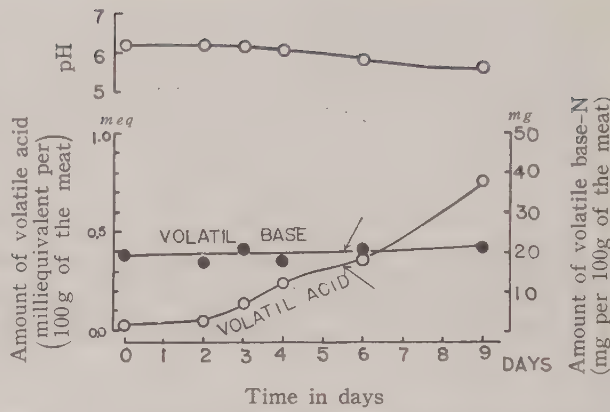


Fig. 2. The change in pH and the increases of volatile base-N and volatile acid in the meat of fish sausage stored at 30°C. The arrows indicate the point reaching unsuitable state as a food.

以上のことは Fig. 1, Fig. 2 からも明らかであつて，好気的条件下では時間の経過とともに揮発性塩基，揮発性酸が著しく増加する。しかしここでとくに注意すべきは揮発性塩基の増加が一般の水産生鮮食品の場合とはやや異なりその増加は完全に腐敗の様相を呈した以後にはじめてみられ，またその生成量もかなり少なく，かまぼこの腐敗の場合の変化に類似している[6]。恐らく腐敗は加熱に耐え生残した脱アミノ作用の弱い ***Bacillus***[7] によつて主として行なわれたためであろう。そのままの状態で貯蔵した場合は貯蔵期間中に揮発性塩基の変化はほとんど認められなかつたが揮発性酸はかなり増加し，不可食とみなされる頃には好気的な貯蔵の場合とほぼ同じく 0.3 meq./100 g 付近に達した。しかしこの数値そののには問題があり後で論議することにする。

pH の変化は好気的な貯蔵の場合，はじめわずかに低下した後いくらか上昇する (6.2→6.1→6.4) がそのままの状態で貯蔵した場合はかなり低下する (6.2→5.65)。

つぎに生成揮発性酸の組成は Fig. 3, Fig. 4 に示すごとく，貯蔵条件によつて著しく異なる。すなわちケーシングされている状態では貯蔵初期（4日目まで）に生成蓄積される酸はギ酸のみであつて酢酸の生成はそれ以後であり，しかもその生成量はきわめて少ない (Fig. 3 参照)。

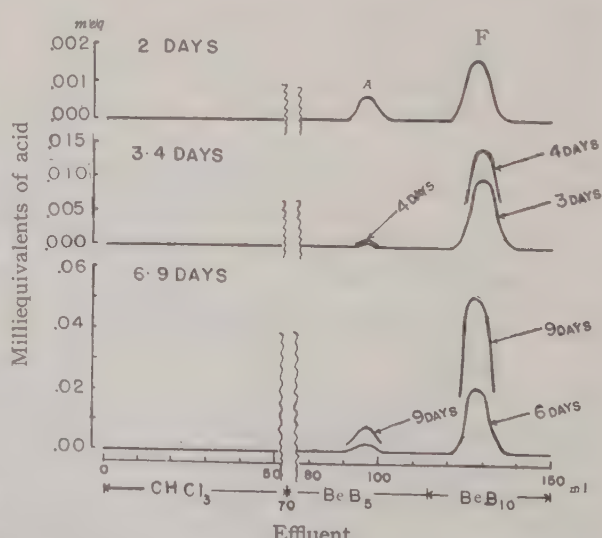


Fig. 3. Chromatographic analysis for the volatile acid formed in 10 g of the meat of fish sausage stored at 30°C. A: acetic acid, F: formic acid. (See the previous paper[5] for the details of the chromatography)

ところが好気的な貯蔵においてはごく早い時期（1日目）にギ酸量が酢酸量を上廻る以外はこの関係は逆となり酢酸量がギ酸量より常に多く，さらにこの傾向は時間の経過とともに大きくなる。また好気的な貯蔵においては肉が完全に腐敗した以後ではあるが，かなりの量の酪酸と少量の未確認酸を検出しうる (Fig. 4 参照)。このように魚肉ソーセージはケーシングされているか否かによつて貯蔵中に生成する揮発性酸の組成比が著しく異なつている。本食品の酸生成基質は細菌に最も利用されやすい糖ばかりではなく，グリコーゲンをはじめ澱粉，蛋白あるいは脂肪なども多量にあるから酸生成の機構はきわめて複雑であると考

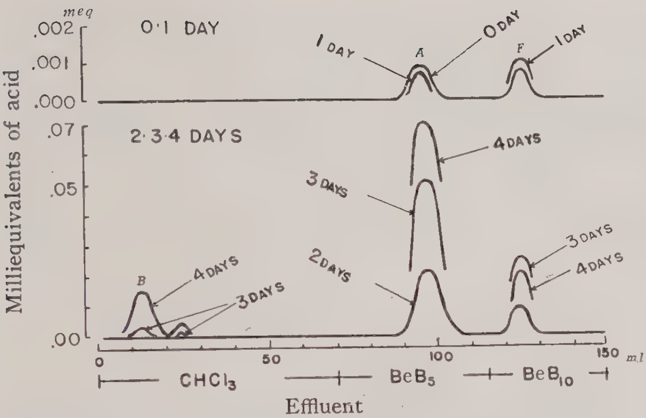


Fig. 4. Chromatographic analysis for the volatile acid formed in 10 g of the meat of fish sausage stored at 30°C under the aerobic condition maintained by the casing removed. B: butyric acid, A: acetic acid, F: formic acid. (See the previous paper[5] for the details of the chromatography)

えられるが，その揮発性酸生成の特異性はさきに *Bacillus* の純粋液体培養でえられた結果と本質的に差異は認められない。すなわち *Bacillus* の揮発性酸生成における i) 嫌気的条件下では酢酸とギ酸のみが生成される。 ii) 好気的条件下では酢酸，ギ酸の他菌種によつては酪酸が生成される。iii) 生成されたギ酸は時間の経過とともに消失するがその消失は好気的であるほど速やかである。iv) 嫌気的条件下では酢酸の生成は菌種にもよるが，かなり抑制される。 v) ギ酸の生成は酢酸の生成に先行する。などの諸事実から魚肉ソーセージの揮発性酸生成の特異性はこの食品が主として *Bacillus* によつて腐敗せしめられるために現われたものと推察される。

HILLIG[8]，浅川[9]，内山[10] らはそれぞれ鮪缶詰肉，キハダ肉，かまぼこについて腐敗過程中の揮発性酸組成の変化をペーパークロマトにより半定量的にしらべている。同氏らによれば鮪缶詰肉やキハダ肉では鮮度低下に伴つてギ酸，酢酸量にくらべてプロピオン酸，酪酸，纈草酸などのより高級揮発性酸量が次第に多くなり，かまぼこでは貯蔵の全期を通じてギ酸は検出されず，食用不適となつた頃プロピオン酸が検出されている。これらの結果は魚肉ソーセージが好気的条件下で貯蔵された場合の結果ともかなり異なつている。恐らくこれは上述のように腐敗に関与する細菌の種類の相違によるためと考えられる。

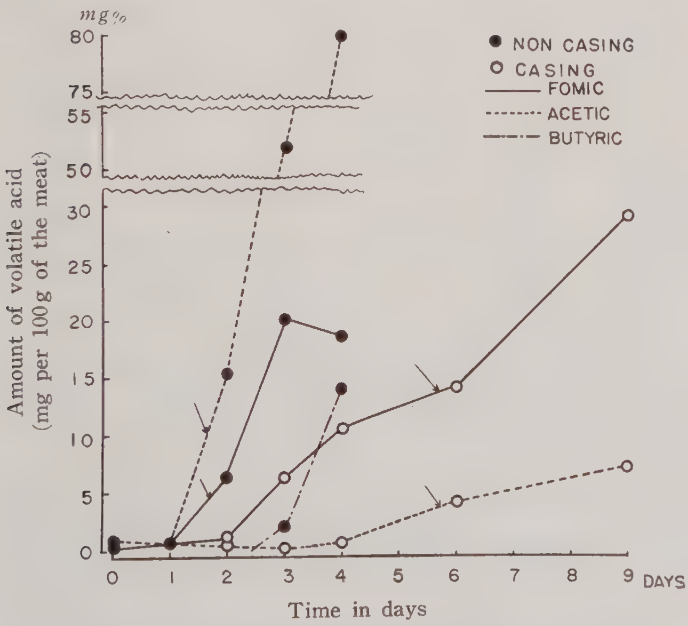


Fig. 5. The influence of the casing upon the increases of volatile acids in the meat of fish sausage. The arrows indicate the point reaching the unsuitable state as a food.

つぎに腐敗の進行と各揮発性酸の増加との関係を理解するために Fig. 3 および Fig. 4 の分析結果をそれぞれの酸の増加曲線で示したのが Fig. 5 である。この実験では変敗点と判定される時期における酸量は好気的な貯蔵ではギ酸 5 mg%，酢酸 10 mg%，ケーシングされている状態での貯蔵ではギ酸 15 mg%，酢酸 5 mg% 各前後である (Fig. 5 参照)。とくにケーシングされている場合について考えるとギ酸の増加は肉眼的には目立つた変化が認められないような早い時期からはじまり，かつそ

の増加率もかなり大きい。また酢酸の増加量は少ないが，その生成開始の時期がほぼ官能的に悪変が感知されはじめるときと一致している。したがつてこれらの事実を応用すれば魚肉ソーセージの鮮度はかなり正確に判定できると推察される。ただここで問題となるのは一般市販品の揮発性酸含量に相違があると思われる点である。たとえば燻煙あるいは燻液の使用方法などによつてもかなり異なるであろう。この実験では貯蔵0時間における含有揮発性酸量がきわめて微量であつたので変敗点に至るまでのギ酸および酢酸量の増加はそれほど多くはなかつたにもかかわらずそれらの増加がともに悪変に対する有効な指標となりえたが，市販品の場合製造直後の製品の揮発性酸の量や質にかなりの相違があれば必ずしも適切な指標とはなりえなくなるかも知れない。

そこで，つぎに市販品の製造直後における揮発性酸含量を定量し上述の点を検討することにした。

実験 II. 市販魚肉ソーセージ中の揮発性酸含量

各メーカーから製造直後の製品を急送*してもらい製品中の揮発性酸量および揮発性塩基量を(各社の製品2本宛) 定量した結果が Table 1 である。なお参考のため魚肉ソーセージ以外の畜肉ソーセージについても同様の分析を行なつたが Table 1 中の試料 F, G がそれである。

Table 1. The amount of volatile acid in the meat of fish sausage on market.

Sample No.	Kind	pH	Volatile base-N mg%	Total volatile acid meq./100g	Butyric mg%	Propionic mg%	Acetic mg%	Formic mg%
A 1	Fish sausage	6.35	11.9	0.202	0	0	9.6	2.0
A 2	〃 〃	6.35	11.3	0.215	0	0	9.4	2.7
B 1	〃 〃	6.35	19.7	0.059	0	0	2.9	0.9
B 2	〃 〃	6.35	20.4	0.073	0	0	2.6	1.3
C 1	〃 〃	6.25	15.8	0.178	0	0	8.3	1.8
C 2	〃 〃	6.25	15.2	0.176	0	0	8.0	1.9
D 1	〃 〃	6.35	11.3	0.636	40.2	0	5.5	3.5
D 2	〃 〃	6.40	11.9	0.613	42.2	0	4.1	3.1
E 1	〃 〃	6.28	15.2	0.476	19.2	0	9.9	4.2
E 2	〃 〃	6.22	12.3	0.448	15.1	0	8.0	6.2
F 1	Pork sausage	6.40	10.3	0.052	0	0	2.7	0.3
F 2	〃 〃	6.40	10.3	0.054	0	0	2.7	0.4
G 1	〃 〃	6.40	13.6	0.255	0	0	11.9	2.6
G 2	〃 〃	6.40	13.6	0.300	0	0	14.2	2.9

市販品の揮発性酸含量には各メーカーによつて著しい差異がみられる。総揮発性酸含量が製造後すでに実験 I では腐敗初期と認められた 0.3 meq./100 g をはるかに超えるものもあり，さらに各製品による含量差がこの値以上であることなどは総揮発性酸の一定量をもつて食用の可否基準とすることが全く不可能であることを示している。

つぎに含有揮発性酸の種類は一部の製品を除き魚肉ソーセージでも畜肉ソーセージでも酢酸とギ酸である。それらの各量は製品によりまちまちであるが，魚肉ソーセージでは酢酸 2.6～9.9 mg%，ギ酸 0.9～6.2 mg% の範囲にある。しかし個々の製品については燻煙中の揮発性酸成分としては一般に酢酸が多いことと

* 製品到着までに 1～3 日を要したが市販品には防腐剤を添加してあるから分析までの間の揮発性酸の増加はきわめてわずかであると思われる。事実一部の試料を到着後 30°C で 3 日間貯蔵してその前後の揮発性酸量を比較したがその変化はきわめてわずかであつた。

関連してか酢酸が常にギ酸より多量である。

実験 I から明らかなように初期腐敗に至るまでの酢酸の増加量は僅か 5mg% 前後であるからこのように酢酸初期含量が一般的に多く，かつ製品による含量差が 5mg% 以上あれば酢酸による鮮度判定は事実上困難である。また，この酢酸含量の不均一性が総揮発性酸量の不均一性のおもな原因となつていることがわかる。これに対して市販品のギ酸含量は比較的少ない上，ケーシングされている状態ではその生成は酢酸の生成にくらべて相対的にとくに顕著であるから鮮度判定指標物質としてギ酸はきわめて好都合である。実際，**実験 I** で示した初期腐敗に至るまでの増加量 15mg% は市販品の初期含量よりはるかに多くギ酸を定量することによつて適確に鮮度を判定しうることは可能であると思われる。

つぎに市販品の一部の製品から検出された多量の酪酸の由来はその製品のギ酸，酢酸量から考えて使用燻液などによるものとは考えられず不明であるが，あるいはきわめて鮮度不良の原料を使用したことによるのかもしれない*。もしそうであれば酪酸の存否によつて原料の良，不良もある程度予想することができるわけである。

鮮度と酸度との間には一般的に相関があるとはいえ総揮発性酸を定量するだけではある特定の製品の悪変過程の追跡に役立つことがあるにしても一般的な鮮度判定には役立たない。浅川[9),11)]は鮮度が低下するにつれて生成揮発性酸の組成が変化することに注目して揮発性酸の溜出比による鮮度判定法を報告している。しかし魚肉ソーセージの場合は生成揮発性酸の組成が特異的であり，かつ初期腐敗に至るまでのその組成比にあまり変化がないから溜出比による鮮度判定は困難であり，どうしても生成揮発性酸をさらに分析定量することが必要であろう。

食品の鮮度判定のために指標として用いられる物質としての適合性は i) 初期含量が少なく，試料による含量差が少ないこと，ii) 初期腐敗に至るまでの変化量が大きいこと，iii) 腐敗過程における変化のようすに普遍性があること，などの条件が満される物質でなければならない。**実験 I, II** の結果から魚肉ソーセージの鮮度の判定にはギ酸を定量することが最良の方法であると思われるが，その詳細についてはさらに現在検討中である。

終りに，本研究にあたり終始熱心な御指導を賜わり，かつ論文の校閲をしていただいた当教室木俣正夫教授に深甚な謝意を表する。

要　　約

1. 魚肉ソーセージを試製し，そのまま 30°C で貯蔵しその変化の様相を揮発性酸および揮発性塩基の生成の点からしらべ鮮度との相関について考察した。またケーシングを除去していわゆる好気的条件下で貯蔵した場合との相違をも比較検討した。

2. さらに市販品（製造後できるだけ新しいもの）の揮発性塩基および揮発性酸の含量をしらべた。

3. 魚肉ソーセージはそのまま貯蔵された場合には好気的条件下における場合よりも揮発性塩基の生成は著しく阻害され揮発性酸の生成もかなり抑制された。

4. そのまま貯蔵された場合に生成する揮発性酸はギ酸と酢酸であり，とくにギ酸の生成蓄積が顕著であるのに対して酢酸の生成量は少なかつた。したがつてそれらの組成比は貯蔵期間中ギ酸が常に多かつた。好気的条件下で貯蔵された場合にはギ酸，酢酸の他肉が腐敗した以後には酪酸が生成された。また好気的条件下では貯蔵初期を除き常に酢酸がギ酸より多かつた。

5. 魚肉ソーセージの鮮度はギ酸の定量により，また原料の良，不良は酪酸の定量により判定しうる可能性を示唆した。

---

* その後メーカーと懇談し，この推定に誤りがないことが確かめられた。

文　　献

1) 赤松幹夫: 本誌, **25**, 545～548 (1959).
2) 清水　亘他: 京大食研報告 **No. 21**, 59～65 (1958).
3) 清水　亘他: 京大食研報告 **No. 19**, 44～51 (1957).
4) 内山　均・横関源延・本橋光太郎: 本誌, **24**, 370～377 (1958).
5) 赤松幹夫: 本誌, **26**, 581～587 (1960).
6) 木俣正夫: 本誌, **16**, 457～460 (1951).
7) 赤松幹夫: 本誌, **25**, 549～553 (1959).
8) HILLIG, F. and CLARK, E. P.: Advances in Food Research II, p. 370 (1949).
9) 浅川末三: 本誌, **20**, 158～167 (1954).
10) 内山　均・横山和吉: 本誌, **18**, 718～722 (1953).
11) 浅川末三: 本誌, **19**, 118～123 (1953).

魚肉ねり製品の研究—X.*

かまぼこすり身に添加された塩類の足におよぼす影響（その１）

岡 村 一 弘

(1960 年 2 月 8 日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO" AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—X. THE SPECIAL CONCENTRATION OF SALT IMPEDING THE KAMABOKO-FORMATION (PART-I)

Kazuhiro OKAMURA**

Based on the intimate relation[1),2),3)] found between the water intake of a fish flesh and the jelly-strength of the Kamaboko prepared thereof, it may be expected that such a salt concentration as just keeps a fish flesh at a minimum of water intake also makes the Kamaboko made of this raw flesh disclose to be at a minimum of jelly strength.

This expectation was proved to be met on the relative jelly strengths of Kamaboko samples evaluated by a newly devised procedure.

According to this procedure, Kamaboko specimens A, B, C,····, respectively different in salt content are made into pairs, the pendants of which alternating with others as many as possible, but definite in number. Depending on the degree of distinction organoleptically found between these pendants, comparative jelly strength is represented, for instance, as $A \fallingdotseq B$, $A \geqq C$, $A > D$, $A \geqslant E$, $A \gg F$, and etc., where in the symbols $\fallingdotseq$, $\geqq$, $>$, $\geqslant$, $\gg$ are estimated as 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 marks, respectively. The total marks to be given to a particular specimen are determined after completing the comparison of every one of the specimens with all the other ones, while a specimen found always to be inferior to others remains getting no marks. The results obtained in the present part of study are summarized as follows:

1. With three sequences of fish paste prepared from *nibea argentata* each comprising several batches of different salt contents, the batches containing KI, $MgCl_2$ and K_2SO_4 at 1/10, 1/50 and 1/50 by molar concentration, respectively, were found to produce Kamaboko specimens each of minimal strengths.

So far as the salt added was $MgCl_2$, also a fish paste prepared from sea-eel gave rise to a Kamaboko of least jelly-strength when the salt concentration was M/50. These values of salt concentration seem likely to be in agreement with those which most effectively reduce the water intake of raw flesh, though the concentrations of $MgCl_2$ and K_2SO_4 that most strongly suppress the water intake of sea-eel flesh have been reported[3)] to be situated equally at M/60.

2. While the addition of KI or $MgCl_2$ had the effect of producing a Kamaboko of large jelly-strength, causing the raw fish paste to soften remarkably, K_2SO_4 had little effect as compared with KI or $MgCl_2$.

先に[1),2)] ピロ燐酸ソーダおよびトリポリ燐酸ソーダの混合塩はある混合比では著しくかまぼこの足を補強するが，他のある混合比ではかえつて足を低下せしめることを知り，その原因を追求してピロ燐酸ソーダは M/400, トリポリ燐酸ソーダは M/750 濃度の添加でかえつてかまぼこの足を低下せしめることを述べた。

---

* 本研究の大要は 1960 年 4 月 4 日，日本水産学会年会（東京）で発表した。

** 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Lab., Kita-ku, Osaka, Japan).

また，かまぼこの足の強弱は原料魚の生肉の吸水率と密接な関係にあることを述べ，生魚肉の吸水率におよぼす塩類の影響を詳細に検討し，その結果つぎのことを知つた。すなわち塩類はある低濃度では生肉の吸水率に極小値を与える。そしてその濃度は塩類のイオン強度とその塩の解離状態に支配され，その関係は一般式に従つて計算することができることを証明し，その式 $\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_i |Z'| = 0.1$ を提案した[3)]。従つてかまぼこの足の強さと原料魚肉の吸水率の大小とが密接な関係にあるならば，生肉魚の吸収率に極小値を与える塩濃度と等しい濃度の塩類，すなわち上式を満足する濃度で塩類をかまぼこに添加すると，かまぼこの足の強さにも極小値が現われると期待される。かかる見地から，かまぼこすり身に色々の濃度で KI, $MgCl_2$, K_2SO_4 を添加してかまぼこを作り，その足の強さがどのように変化するかを調べた。

これらの結果とその考察についてここに報告する。

実験方法

1. 実験材料: キグチおよびハモ肉を使用し，キグチは冷凍品を，ハモは近海物の比較的新鮮なものをそれぞれ使用した。キグチは3枚におろして水洗いし，ハモ肉は水洗いしないで挽肉としてかまぼこ原料に供した。

2. かまぼこの製造条件: キグチまたはハモ挽肉をそれぞれ単独で使用し，挽肉 77 g を擂鉢で荒ら摺りし，ついでそれぞれの薬品（塩類）を加えて暫らく摺り，食塩 3g，澱粉 7.7g，水 15cc を加えて充分に摺つて約 100 g の摺身とする。摺身を扁平な円形の餅状となし，95°～100°C の熱湯中で 25 分間加熱してかまぼこ製品とする。なお，塩類の添加量は摺り上げ肉 1kg に対する添加塩のモル数で示す。

3. 足の強弱の判定法: 加熱後のかまぼこ製品は室温に放冷した後乾燥を防ぎながら 3°C の冷蔵庫に約1日間保存した。しかる後官能検査によつて足の強弱を判定する。かまぼこは製造後刻々その足が変化する上に，製品の部分によつてかなり足が異なるのでこれらの点[4)]を充分考慮に入れて試験する。いま各かまぼこ製品の足の強さを A, B, C, D ‥‥ とするとこれらの製品について色々の組み合わせを行い，できるだけ多くの組み合わせについて足の強弱を比較する。A と B の比較において A が B より官能的に明らかに強いと $A > B$, A が B よりやや強いと $A \geqq B$, 殆んど差がなければ $A \doteqdot B$, かなり大きな差があれば $A \gg B$, 非常に大きな差があると $A \ggg B$ の記号で表わす。そして記号 $>$ の差を1ポイントとし， $\geqq$ を 0.5, $\gg$ を 1.5, $\ggg$ を 2, $\doteqdot$ を 0 ポイントとして図示する。

4. pH の測定: 足測定と同時に検体 10g をとり，これに水 50cc を加えてブレンダーで均質化して得た液についてガラス電極 pH メーターで測定をする。

実験結果と考察

1. キグチ肉を原料とする魚肉すり身に $MgCl_2$ を添加した場合

かまぼこの足の強さの変化はつぎのようになる。ただし塩化マグネシウムを $\frac{1}{100}$ mol 添加したかまぼこの足の強さを $\frac{m}{100}$ というように表現し，無添加のかまぼこの足，すなわち対照を cont. で表わす。

$$\text{cont.} < \frac{m}{50} \leqq \frac{m}{200} \leqq \frac{m}{100} \leqq \frac{m}{25} \leqq \frac{m}{10} \leqq \frac{m}{5} \qquad \text{(足の強くなる順)}$$

$$\text{cont.} \leqslant \frac{m}{200} \leqq \frac{m}{100} > \frac{m}{50} \leqslant \frac{m}{25} \leqq \frac{m}{10} \leqq \frac{m}{5} \qquad \text{(塩の濃度順)}$$

これを足測定法の所で述べたように各ポイントで表わして図示すると Fig. 1 のようになる。

Fig. 1 から明らかなように M/50 濃度附近に極小値が見られる。$MgCl_2$ が生魚肉の吸水率に極小値を与える濃度は M/60 附近[3)] であつて吸水極小濃度と足の強さに極小値を与える塩濃度とがよく一致する。しかしこの場合，極小値の足の強さは対照の足より強い。キグチでは $MgCl_2$ を添加したものはすべて無添加のものより足が強くなる。

pH の値には余り大きな変化はないが，$MgCl_2$ M/10 以上添加の場合には pH の値は対照より低くなる。

$MgCl_2$ の溶液は酸性のため $MgCl_2$ を添加すると製品の pH が低下するのは当然であると考えられるが，M/200，M/100 添加で pH の値がかえつて高くなつているのは何故であろうか。$MgCl_2$ を添加するとすり身が柔かくなり光沢を増してやや透明気味となる。また製品も透明気味となる。これらのことから $MgCl_2$ は魚肉すり身において蛋白の分散度を高めるのではないかと考えられる。

2. ハモ肉を原料とする魚肉すり身に $MgCl_2$ を添加した場合

その結果はつぎのようになる。

$$\frac{m}{50} \leqq \frac{m}{25} \doteqdot \text{cont.} \leqq \frac{m}{800} < \frac{m}{400}$$
$$\doteqdot \frac{m}{200} \leqq \frac{m}{100} \leqq \frac{8m}{100},$$
$$\text{cont.} \leqq \frac{m}{800} < \frac{m}{400} \doteqdot \frac{m}{200} \leqq \frac{m}{100}$$
$$\geqslant \frac{m}{50} \leqq \frac{m}{25} < \frac{8m}{100}$$

これを図示すると Fig. 2 のようになる。

ハモ肉に $MgCl_2$ を添加した場合もキグチ肉と同様に M/50 濃度附近で足の強さが極小となり，生魚肉の $MgCl_2$ 溶液における吸水極小濃度とよく一致する。しかしハモ肉の場合にはキグチ肉に比較して足の強さの変化が少ない。pH の変化はキグチの場合に似ていて M/25 以上からかまぼこ製品の pH が低下する。ハモ肉の場合には $MgCl_2$ を M/50 添加したものの足は対照より弱くなつている。しかし M/50 添加を除いてはすべて $MgCl_2$ を添加した方が足が強くなることは注目に値する。また $MgCl_2$ の足補強効果はハモ肉においてよりもキグチ肉において著しい。これはキグチ肉はハモ肉より pH の値が高いからであつて，$MgCl_2$ の足補強効果はすり身の pH が少くともある範囲内では高いほどその効果が大きいことを別の実験で確認している。

3. キグチ肉を原料とする魚肉すり身に KI を添加した場合

その結果は次の通りである。

$$\frac{m}{10} \leqq \text{cont.} \leqq \frac{m}{300} \leqq \frac{m}{50} \leqq \frac{m}{100}$$
$$\leqq \frac{m}{25} \doteqdot \frac{m}{5} < \frac{2m}{5} \doteqdot \frac{m}{2}$$
$$\text{cont.} \leqq \frac{m}{300} < \frac{m}{100} \geqq \frac{m}{50} < \frac{m}{25} \geqslant \frac{m}{10}$$
$$\leqslant \frac{m}{5} < \frac{2m}{5} \doteqdot \frac{m}{2}$$

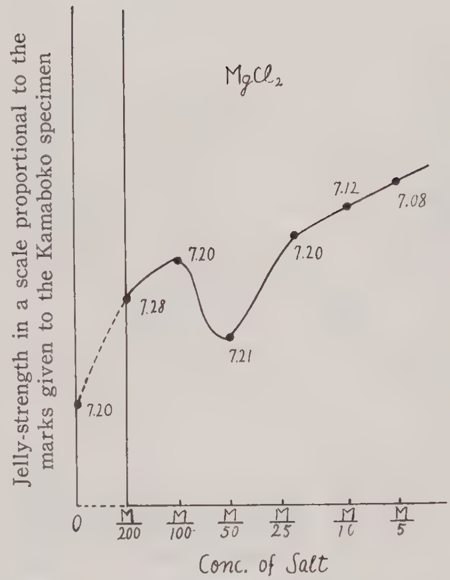


Fig. 1. Organoleptically marked jelly-strength of Kamaboko plotted against the concentration of the $MgCl_2$ added to a raw fish paste prepared from *nibea argentata*. The numerals along the curve show the pH values of Kamaboko specimens.

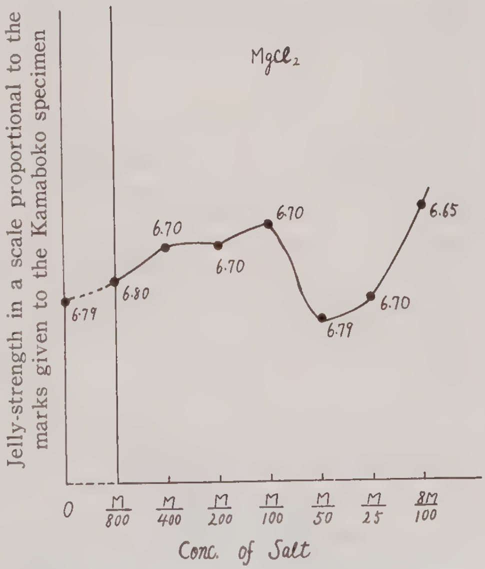


Fig. 2. The same as in Fig. 1, but Kamaboko specimens were prepared from *muraenosox cinereus*.

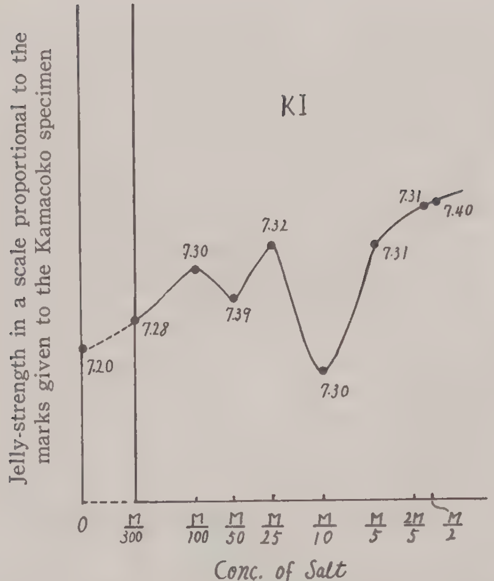


Fig. 3. Organoleptically marked jelly-strength of Kamaboko plotted against the concentration of the KI added to a raw fish paste prepared from *nibea argentata*. The numerals along the curve show the pH values of Kamaboko specimens.

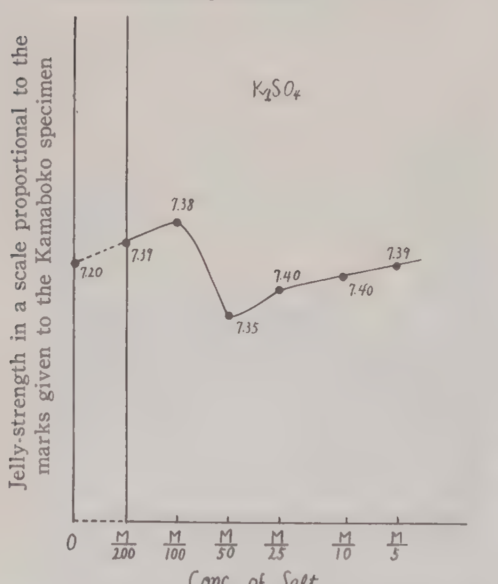


Fig. 4. Organoleptically marked jelly-strength of Kamaboko plotted against the concentration of the K_2SO_4 added to a raw fish paste prepared from *nibea argentata*. The numerals along the curve show the pH values of Kamaboko specimens.

これを図示すると Fig. 3 の通りである。

この結果から判るように，KI を添加した場合も明らかに M/10 濃度で足の強さが最小となる。KI が生魚肉の吸水率に極小値を与える濃度も M/10 であるから，KI の場合も生魚肉の吸水率に極小値を与える塩濃度とかまぼこの足の強さに極小値を与える塩濃度が全く一致する。先にも述べたように KI はかまぼこの足を著しく強め[2]，また生魚肉の吸水力にも特異的[3]に作用する。Fig. 3 から明らかなように KI についてはM/10 添加を除いてはすべての濃度で無添加のものより足が強くなつている。これは KI 添加によるイオン強度の増大と pH 上昇も幾らか影響しているであろうが，主として KI の肉蛋白に対する特異性[5),6)]によるものと考えられる。KI を添加すると魚肉すり身が非常に柔かくなつて光沢を増し，蒸し上げたかまぼこ製品の透明感を増加する。これらの観察から KI は魚肉に特異的に作用してすり身の溶解度ないし分散度を高めるのではないかと考えられる。また M/50 添加の所で足がやや低下するのはその理由は明らかでないが pH の値もこの点で急に高くなつていることから考えて何か実体的な変化が起されるように考えられる。

4. キグチ肉を原料とする魚肉すり身に K_2SO_4 を添加した場合

その結果はつぎの通りである。

$$\frac{m}{50} \leqq \frac{m}{25} \doteqdot \frac{m}{10} \doteqdot \frac{m}{5} = \text{cont.} \leqq \frac{m}{200} \leqq \frac{m}{100}$$

$$\text{cont.} \leqq \frac{m}{200} \leqq \frac{m}{100} \gg \frac{m}{50} \leqq \frac{m}{25} \doteqdot \frac{m}{10} \doteqdot \frac{m}{5}$$

$$\left(\text{ただし，} \frac{m}{50} < \frac{m}{5},\ \frac{m}{50} \ll \frac{m}{100},\ \frac{m}{10} < \frac{m}{100},\ \frac{m}{25} < \frac{m}{200},\ \frac{m}{25} < \frac{m}{5}\right)$$

これを図示すると Fig. 4 のようになる。

K_2SO_4 が水溶液において生肉に吸水極小値を与える塩濃度は M/60 である[3]。Fig. 4 からも判る通り，すり身に K_2SO_4 を添加したかまぼこの足も M/50 濃度附近で極小となつて，吸水極小濃度と足の極小濃度がよく一致する。K_2SO_4 を添加した場合のかまぼこの足は KI, $MgCl_2$ 等の場合に比較して足の変動が少なく，また K_2SO_4 は足補強効果は少ない。K_2SO_4 を添加した場合にはすり身に殆んど顕著な差は認められない。しかしかまぼこ製品の硬さが増し，食味に粗らさが増す。K_2SO_4 添加の場合も M/100 濃度までは足が強くなるようであるが，この足補強効果の割合は，

KI, $MgCl_2$ の場合より少ない。しかし足に極小値を示す濃度より低濃度側では pH の上昇は K_2SO_4 が一番大きく KI, $MgCl_2$ の場合より大きい。この事実は K^+ イオンと SO_4^{--} イオンととの吸着性の差異から来る注目すべき結果であると考えられる。

かまぼこ製造時の塩濃度と足の関係は，志水等[7),8)]によるとある濃度までは大体塩濃度（イオン強度）に比例して足が強くなると。いま M/100 の K_2SO_4 を添加すれば，イオン強度のみからすれば 3M/100 の NaCl を添加したのと同じこととなる。また筆者の生魚肉の吸水力の研究によると，吸水率を極小値にもたらす塩濃度の作用力は K_2SO_4 の場合には NaCl に比較して更にイオン強度の倍となる[3)]。もちろん塩濃度の足に対する作用と生肉の吸水率に対する作用とは必ずしも全面的には同一視できないが，吸水率に極小値を与える塩濃度と足の強さに極小値を与える塩濃度が全く一致するので（次報参照），このような観点に立てば K_2SO_4 の M/100 添加は NaCl の 6M/100 (0.35%) 添加と等しい作用を持つこととなる。

したがつて K_2SO_4 を M/200, M/100 添加した場合に，かまぼこの足が強められるのは普通に NaCl 添加の場合に見られる種類の塩濃度の増大による足補強効果ではないかと考えられる。

要　　約

かまぼこの足の強さと，その原料生魚肉の吸水力とは密接な関係があるので，生魚肉の吸水率に極小値を与える塩濃度においてかまぼこの足の強さがどのようになるかを試験した。

1) KI, $MgCl_2$, K_2SO_4 の3種の塩類をかまぼこすり身に濃度を色々に変えて添加してかまぼこを作り，これらの塩の濃度に応じてかまぼこの足がどのように変化するかを調べたところ，KI では 1/10 mol 濃度附近で，$MgCl_2$, K_2SO_4 では 1/50 mol 濃度附近でかまぼこの足の強さに極小値が見られた。（塩濃度は魚肉すり身 1 kg あたりの mol 濃度）これは生肉に対する吸水極小塩濃度とよく一致する。

2) KI, $MgCl_2$ は魚肉すり身に対して特異的に作用し，すり身を著しく柔かくし，かつ，かまぼこの足補強効果が強い。しかし K_2SO_4 はすり身に殆んど変化を与えず，かまぼこに対する足補強効果も少ない。

終りに，絶えず御鞭撻と激励を賜わつた京都大学の清水亘博士を初め，大阪市立衛生研究所長，岡原国男博士ならびに同研究所の久保正徳，田中薫樹両博士に厚く感謝申し上げる。また，本研究遂行に協力された井原典子氏に深謝の意を表する。

文　　献

1) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**, 10, 821～832 (1959).
2) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**, 12, 979～993 (1959).
3) 岡村一弘：本誌，**26**, 1, 60～74 (1960).
4) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**, 12, 994～1000 (1959).
5) C. E. SWIFT and Rex ELLIS: *Food Tech.*, **10**, 11, 546～552 (1956).
6) T. C. TSAO and K. BAILEY: *Bioch.* et *Bioph.*, **11**, 102～111 (1953).
7) 志水　寛・清水　亘・池内常郎：本誌，**20**, **4**, 295 (1954).
8) 志水　寛・清水　亘：本誌，**21**, 7, 501 (1955).

魚肉ねり製品の研究—XI.*

かまぼこすり身に添加された塩類の足におよぼす影響 (その2)

岡 村 一 弘

(1960 年 2 月 8 日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO" AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—XI. THE SPECIAL CONCENTRATION OF SALT IMPEDING THE KAMABOKO-FORMATION (PART-II)

Kazuhiro OKAMURA**

Jelly-strength of Kamaboko was examined at various concentrations of phosphates added to raw flesh obtained from sea-eel, *muraenosox sinerus*. Equimolar mixture of mono and dihydric phosphates of potassium, equimolar mixture of normal sodium pyrophosphate and dihydric sodium pyrophosphate, and sodium tri-polyphosphate neutralized with HCl to avoid the effect of alkalinity were employed. The results obtained were as follows:

1. When the raw flesh was manufactured in batches into Kamaboko after addition of different amounts of said mixture of potassium phosphates, three batches containing the mixed salt at concentrations of M/20, M/60 and M/36, respectively, produced Kamaboko specimens poorest in jelly-strength (see Fig. 1).

2. From batches of raw flesh added with different amounts of abovementioned mixture of pyrophosphates, Kamaboko specimens with least jelly-strengths were produced at four different concentrations of pyrophosphate, viz., at M/400, M/300, M/200 and M/100 (see Fig. 2).

3. For Kamaboko specimens prepared by using different amounts of the neutralized sodium tri-polyphosphate, five minima of jelly-strength were found at concentrations of this phosphate of M/750, M/600, M/450, 1.3M/300 and M/150 (see Fig. 3).

From the interpretation of these results with reference to those obtained in preceding parts of this series of studies[1),2),3)], the following inference may be drawn:

The salt concentration at which the water intake of raw fish flesh retires to a minimum also causes the Kamaboko prepared thereof to be at a minimum in jelly-strength.

The value for this salt concentration satisfies the following equation:

$$\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_i |Z_i'| = 0.1$$

where V_i stands for molar concentration of the i-th ion, Z_i for the valency of the i-th ion at ideal complete dissociation of the salt, and Z_i' for the valency of the i-th ion at an intermediate dissociation under the experimental condition.

前報[1)]で KI, $MgCl_2$, K_2SO_4 の塩類は生肉の吸水率にそれぞれ 1 個宛の極小値を与えるが，またこれらの塩濃度でかまぼこの足の強さにも各 1 個宛の極小値を与えることを確めた。また先にピロ燐酸ソーダ (P. P. Na) およびトリポリ燐酸ソーダ (T. P. Na) はそれぞれ M/400 および M/750 濃度の添加によつてかまぼこの足を著しく低下させることを報告した[2)]。しかるに P. P. Na, T. P. Na は生魚肉の吸水率にそれぞれ 4 個と 5 個の極小値を与えるので[3)], これらの塩類が生魚肉の吸水率に極小値を与える塩濃度でそれぞれか

* 本研究の大要は 1960 年 4 月 4 日，日本水産学会年会（東京）で発表した。
** 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Lab., Kita-ku, Osaka, Japan).

まぼこの足がどのようになるかを詳細に調べることとした。

これはかなりめんどうな仕事であるが，かまぼこと塩類の関係を論ずる上に甚だ重要だと思われるので，P. P. Na，T. P. Na および更に正燐酸カリ（P. K）をも合わせてこれら塩類をかまぼこすり身に添加し，これらの塩類濃度に応じてかまぼこの足がどのように変化するかを詳細に試験した。その結果を報告しながら二三の考察を試みる。

実 験 方 法

1. かまぼこの製造： 原料魚肉としてはハモ肉のみを用い，前報[1]と同じ方法でかまぼこを作つた。かまぼこすり身の原料組成はハモ挽肉 700 g，馬鈴薯澱粉（局方品）70 g，水 150 cc，食塩 30 g の割合である。

2. 足の強弱および pH の測定： いずれも前報と同じ方法によつた。

3. 燐酸塩類の添加方法： 第三燐酸カリ，P. P. Na，T. P. Na はいずれもアルカリ性であるため，これらの塩類をすり身に添加すると，かまぼこの pH がかなり高められる。したがつて pH による足の変化が著しく，この変化のために燐酸塩類そのものによる微妙な足の変化は隠蔽されてしまう。そこで pH の上昇によつて起る足の変化をなくして燐酸塩類による足の変化を知るために燐酸塩類をそれぞれつぎの方法によつて適当に中和して使用した。

a)，正燐酸カリ（P. K）： 第二燐酸カリ（K_2HPO_4）と第一燐酸カリ（KH_2PO_4）の等モル混合塩を調製して使用した。この混合塩の 1% 水溶液の pH は 7.05 であつた。

b)，ピロ燐酸ソーダ（P. P. Na）： ピロ燐酸ソーダ（$Na_4P_2O_7$）と酸性ピロ燐酸ソーダ（$Na_2H_2PO_7$）の等モル混合塩を調製して使用した。この混合塩の 1% 水溶液の pH は 7.22 であつた。

c)，トリポリ燐酸ソーダ（T. P. Na）： トリポリ燐酸ソーダ（$Na_5P_3O_{10}$），このものの酸性塩は市販になく，また酸性塩を結晶状にとり出すことは困難*なので，塩酸で中和した溶液を調製し，この溶液をすり身に添加した。したがつてすり身を作る時の添加水量は計算量だけ少くし，また中和によつて食塩ができるため T. P. Na を高濃度に添加する場合にはこの食塩を無視することができないので，すり身を作るときに加える食塩量において必要量だけの差引きを行つた。この中和した T. P. Na の M/10 溶液の pH は 6.25 であつた。

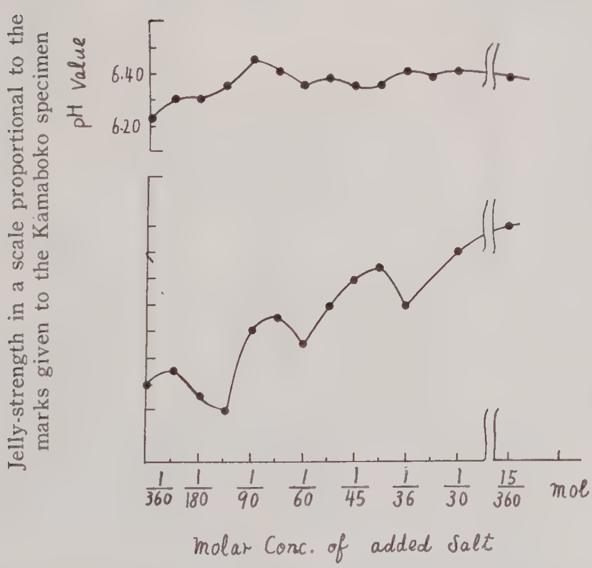


Fig. 1. Values of pH and organoleptically estimated jelly-strengths of Kamaboko specimens from sea-eel flesh by addition of various amounts of equimolar mixture of KH_2PO_4 and K_2HPO_4.

実験結果並びに考察

i)，正燐酸カリ： 正燐酸カリを M/360～15 M/360 濃度範囲でかまぼこすり身に添加してかまぼこを作つた場合の変化は Fig. 1 の通りである。

すなわち燐酸塩の濃度が M/120, M/60, M/36 でそれぞれ足が低下して，この近辺で足の強さに極小値が見られる。この燐酸塩の 1% 水溶液の pH は 7.02 であつて燐酸塩を添加したかまぼこの pH はすべて対照品の pH より高くなつている。しかし，5 M/360 添加のかまぼこの pH が最も高い値を示す理由は不明である。

* トリポリ燐酸塩の水溶液は加水分解[4]されやすく特に酸性では著しい。

第1の極小値における足の強さは対照のかまぼこの足より弱いが，第2，第3の極小値における足の強さは，対照のかまぼこの足よりかなり強い。本実験の結果では，P. K，M/180～M/120 添加の場合のみが対照より足が弱く，他はすべて P.K を添加した方が足が強くなつている。また P. K の添加量の増大につれて足が強くなる傾向がはつきり見られる。また pH の値も P. K の添加量の増大につれて高くなつている。この濃度の増大によつて足が強くなるのは，pH 値が高くなることと塩濃度の増大によるイオン強度の増大によるものと考えられる（X報参照)。

正燐酸塩が生魚肉の吸水率に極小値を与える濃度は3つあつて，M/120，M/90，M/45 濃度附近である。また吸水極小塩濃度の計算式[3])

$$\frac{1}{2}\sum_{i} V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_{i} Z_i' \quad 0.1 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

を満足する P. K の濃度は M/180, M/120, M/60 である。正燐酸塩の場合には色々の要因，条件によつて実際の吸水極小濃度はこの計算値からずれることを述べた[3])。Fig. 1 に示した。P. K を添加した場合のかまぼこの足も，吸水率の場合と同じような理由でずれているのではないかと考えられる。

P. K の添加によつてすり身には別段著しい変化は見られない。P. K 添加によつてかまぼこ製品の食味はやや変化するようで P. K の濃度が高くなると “水ぽく” なる。これは P. K; 5M/360 以下では対照と余り差はないが 9M/360 附近から著しく “水ぽく” なる。

ii)，ピロ燐酸ソーダ： P. P. Na を M/1600～M/80 濃度添加して作つたかまぼこの足の変化は Fig. 2 のようになる。

Fig. 2 から明らかなように，P. P. Na 添加の場合には M/400, M/300, M/200 濃度附近で足の強さに極小値が見られる。ピロ燐酸ソーダが生肉の吸水率に極小値を与える濃度は先に提案した式[3]) によれば M/400, M/300, M/200, M/100 濃度である。しかし実際には色々の要因のためにその吸水極小濃度はかなりずれる。しかしかまぼこの足の場合には吸水率の場合よりも良くこの式を満足するような濃度で足の強さに極小値を与えることが判る。

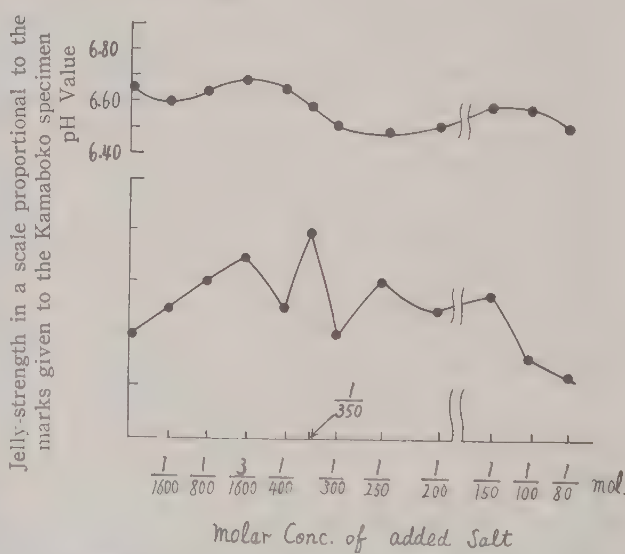


Fig. 2. Values of pH and organoleptically estimated jelly-strengths of Kamaboko specimens prepared from sea-eel flesh by addition of various amounts of equimolar mixture of $Na_4P_2O_7$ and $Na_2H_2PO_7$.

ここに使用したピロ燐酸塩の1% 水溶液の pH は 7.22 であつて無添加のかまぼこの pH は 6.65 である。しかるに Fig. 2 から判る通り，P. P. Na を添加したかまぼこの pH はすべて対照より低くなつている。この理由としてはピロ燐酸ソーダ溶液は加熱すると加水分解を受け，特に酸性において加水分解され易いこと，また K. W. GERITSMA and J. C. FREDERICKS[9]) 等が肉に添加された縮合燐酸塩（Phyrophosphate and Currol's salt）は1日以内の貯蔵で 74～59% 加水分解されると述べていることから推察すれば，この場合も P. P. Na が加水分解されて2つの燐酸ができて酸性基の水素が増加するため pH が低下すると考えられる。また P. P. Na の添加量の増大につれて pH は低下する傾向にある。ピロ燐酸ソーダは魚肉ねり製品の足を著しく強める作用があるが，これは中和されない P. P. Na ($Na_4P_2O_7$) を使用した場合であつて，Fig. 2 から明らかな通り，中和された P. P. Na では殆んど足

補強効果がないことが判る。未発表の他の実験においても確認しているが，P. P. Na の足補強効果はかまぼこ製品の pH に著しく左右される。したがつて，これらのことから P. P. Na がねり製品の足を強めるのは P. P. Na 添加によつて起るねり製品の pH 上昇に負う所が多いということができる。

P. P. Na を添加したすり身は著しく流動性が増大して，俗にいう “だれ” やすくなることを前に報告[6]したが，中和した P. P. Na を添加しても “だれ” は著しい。M/1600 添加においても相当にだれ，濃度の増大につれて “だれ” は著しくなる。また P. P. Na を添加したかまぼこは “しぶみ” が強い。

iii)，トリポリ燐酸ソーダ： 塩酸で中和して作つた M/10 溶液 (pH 6.25) を M/1500～M/100 濃度まで添加してかまぼこを作り，T. P. Na の濃度によつてかまぼこの足がどのように変化するかを調べた結果は Fig. 3 の通りである。すなわち T. P. Na の添加量が M/750, M/600, M/450, 13M/3000, M/150 濃度附近で足の強さにはつきりと極小値が見られる。先に T. P. Na の吸水率におよぼす影響の所で T. P. Na はほぼ $\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_i |Z_i'| = 0.1$ を満足する濃度で吸水極小値を与えることおよび，色々の条件によつてこの濃度がずれることを述べた。しかし本実験のかまぼこの足の場合には吸水率の場合よりも遥かによく先の式を満足する濃度で足の強さに極小値を与えることが判る。

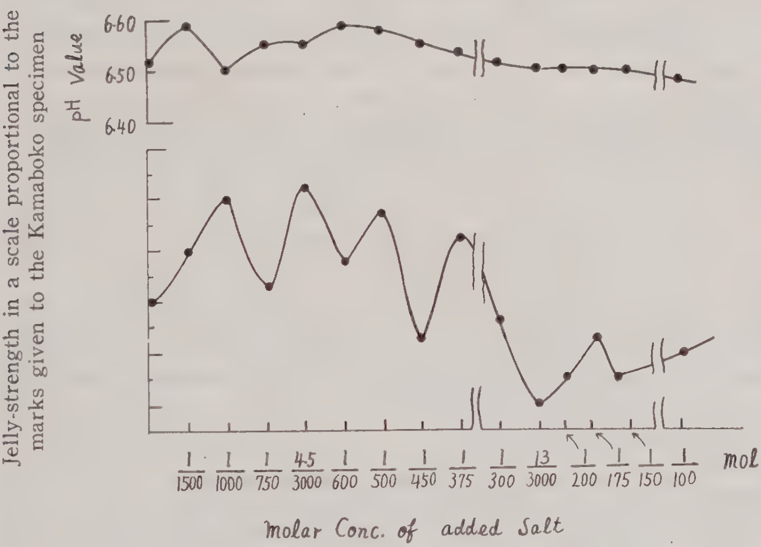


Fig. 3. Values of pH and organoleptically estimated jelly-strengths of Kamaboko specimens prepared from sea-eel flesh by addition of various amounts neutralized sodium tri-polyphosphate.

pHの値は T. P. Na の添加量 M/1000～M/750 附近で低下し，M/600 附近で最も高くなり，それ以上の濃度では次第に pH が低下する。

T. P. Na の添加量が M/500 以下ではかまぼこの足はいずれも無添加の対照より強い。しかし M/500 以上の添加では M/375 を除いてはすべてT. P. Na 添加のものの方が対照より足が弱い。T. P. Na を添加するとかまぼこの足は著しく補強されることは周知のことであるが，本実験のように中和した T. P. Na では濃度が高くなるほどかえつて足補強効果が少なくなることは注目に値する。中和しない T. P. Na を添加するとかまぼこの pH が高くなり，T. P. Na の濃度が高くなるほど pH も高くなる。したがつて pH の上昇によつて足も強くなる。しかし 2 報で T. P. Na は 0.3% (約 M/125) 以上添加しても足はそれ以上強められないことを報告したが，このことは本実験結果からも充分うなずける。

P. P. Na もその足補強効果は pH の上昇に負う所が大きいことを述べたが，T. P. Na の添加による足補強効果も pH の上昇に負う所が大きい。

中和しない T. P. Na を添加した場合には M/750 濃度で足の強さにはつきりと極小値が認められるが，M/600 以上の高濃度側ではこの極小値は pH の上昇による足補強効果のために隠蔽されて明白には認め難い。そして M/750 以上の高濃度側では Fig. 3 におけるこの曲線は急勾配をもつて起き上がることとなる。丁度中和しない T. P. Na の生魚肉内吸水率におよぼす影響の場合のようになる。第 8 報[3] Fig. 7 の曲線 (I), (II) と同じ型となる（未発表）。中和しない P. P. Na を添加した場合も同様であつて M/400 濃度附

近における足の極小値は明瞭に見られるが，それより高濃度では中和しない T. P. Na と同様のことがいえる。(未発表)

T. P. Na を添加した場合のすり身の変化を見ると，P. P. Na を添加した場合と同じように，すり身の流動性が大きくなり“だれ”やすくなる。この“だれ”やすさの傾向は M/1500 添加においてもすでに明らかに認められ，T. P. Na の添加量の増加するにつれて大きくなり，M/500 以上の高濃度側において“だれ”は特に甚だしい。また T. P. Na を添加した製品は食味に収斂味が認められる。M/800～M/400 濃度添加したものは“水ぽい”感じがあり，M/350 以上添加したものでは製品が硬い。収斂味は M/350 以上ではかなり著しい。

要　　約

ほぼ中性にまで中和した正燐酸カリ (P. K)，ピロ燐酸ソーダ (P. P. Na)，トリポリ燐酸ソーダ (T. P. Na) をそれぞれ色々の濃度にかまぼこすり身に添加してかまぼこを作り，かまぼこの足の強さがこれらの塩濃度によつてどのように変化するかを試験した。その結果，P. K では M/120, M/60, M/36, 濃度附近に，P. P. Na では M/400, M/300, M/200 濃度附近に，T. P. Na では M/750, M/600, M/450, 1.3 M/300, M/150 濃度附近に足の強さに極小値が見られる。これらの事実は，これらの燐酸塩類が魚肉の吸水率に極小値を与える塩濃度とよく一致する。

いま，V_i をイオン濃度 (mol/l)，Z_i を塩が完全に解離した時の荷電数，Z' をその塩のある解離段階におけるイオン荷電数とすると，一般に塩類は水溶液において，つぎの式を満足する濃度で生魚肉の吸水率に極小値を与える。

$$\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_i |Z_i'| = 0.1$$

ということを先に提案した。

いまここに X 報[1]と本報の実験結果よりつぎのことがいえる。一般に塩類は水溶液において上式を満足するような濃度で生魚肉の吸水率に極小値を与えるとともに，塩類がかまぼこすり身に添加された場合にも上式を満足するような濃度においてかまぼこの足の強さにも極小値を与える。(ただし，塩濃度はかまぼこの場合にはすり身 1kg 当りの添加塩のモル数)

終りに，絶えず御鞭撻を激励を給わつた京都大学教授清水亘博士を始め，大阪市立衛生研究所長桐原国男博士並びに同研究所の久保正徳，田中薫樹両博士に厚く感謝申し上げる。また本研究遂行に協力された井原典子氏に深謝の意を表する。

文　　献

1) 岡村一弘：本誌，**26**，1，595～599 (1960).
2) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**，12，975～985 (1959).
3) 岡村一弘：本誌，**26**，1，p. 60～74，1960.
4) 小林正光・品川睦明：化学の領域，**8**，2，36～46 (1954).
5) K. W. Gerritsma and J. C. Fredericks：C. A. **49**，11202，f (1955).
6) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**，12，986～993 (1959).
7) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**，10，821～825 (1959).

魚肉ねり製品の研究—XII.*

かまぼこすり身に添加された塩類の足におよぼす影響 (その 3)

岡 村 一 弘

(1960 年 2 月 8 日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO" AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—XII. THE SPECIAL CONCENTRATION OF SALT IMPEDING THE KAMABOKO-FORMATION (PART-III)

Kazuhiro OKAMURA**

From the previous disclosure[2] of that the concentration of salt most strongly impeding the formation of Kamaboko is likely governed almost purely by ionic valency and dissociation of the salt added to raw fish paste, an inference may be drawn that any kinds of salts hygienically available in Kamaboko manufacture interact generally with definite sorts of ionic loci on the protein molecules building up the structure of Kamaboko jelly. If this inference is to make a hit, simultaneous application of various kinds of salts, so far as each of them is at its peculiar concentration that corresponds to a minimum Kamaboko jelly-strength, will little exaggerate the depression in jelly-strength as compared with single use of each salt. Further, it is also expectable that if various salts are applied as a mixture, each salt being at a concentration distinctly lower than the lowest concentration capable of assigning a minimum jelly-strength to the Kamaboko produced, a smaller jelly-strength will be realized as compared with the case of single use of each salt at this concentration.

The present investigation, in which the effects of singular or combined use of M/10 KI, M/60 $MgCl_2$, M/60 Na_2SO_4, M/180 Na_2HPO_4, M/400 $Na_4P_2O_7$ and M/750 $Na_5P_3O_{10}$ on jelly-strength were examined on the one hand, those of M/360 Na_2HPO_4, M/800 $Na_4P_2O_7$ and M/1000 $Na_5P_3O_{10}$ on the other, led to the following results which strongly support the inference drawn above.

1. When the salt added to raw fish paste belonged to the group comprising M/10 KI, M/60 $MgCl_2$, M/60 Na_2SO_4, M/400 $Na_4P_2O_7$ and M/750 $Na_5P_3O_{10}$, the salt concentrations being represented as the number of moles per kg. fish paste, the Kamaboko produced were found to be in the following circumstances:

a) The jelly-strength attained by addition of $Na_4P_2O_7$ or $Na_5P_3O_{10}$ was greater than that of control (Kamaboko prepared without salt addition), while the jelly-strength of Kamaboko produced by addition of KI, $MgCl_2$ or Na_2SO_4 was smaller than that of control.

b) Addition of two members of said salts in combination always produced Kamaboko of smaller jelly-strength as compared with control irrespective of the kind of the salt employed in combination, simultaneous application of $Na_4P_2O_{10}$ and $Na_5P_3O_{10}$ leading to a smallest jelly-strength.

c) Additions of three members of said salts in combination lowered the jelly-strength more strongly than additions of two members in combination.

d) Additions of four members of said salts in combination lowered the jelly-strength more intensively than additions of three members in combination.

e) Simultaneous addition of all the salts, five kinds in total, more strongly lowered the jelly-strength than simultaneous additions of four members of these salts. From the results

* 本研究の大要は 1960 年 4 月 4 日，日本水産学会年会（東京）で発表した。

** 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Lab., Kita-ku, Osaka, Japan).

of a, b, c, d and e, it follows that the more the kinds of salt employed in combination, the smaller the jelly-strength of the Kamaboko produced.

2. When the salt added consisted at least of a member selected from the group comprising M/360 Na_2HPO_4, M/800 $Na_4P_2O_7$ and M/1000 $Na_5P_3O_{10}$, salt addition to raw fish paste had the following effects on the Kamaboko produced:

Excepting the mixture of M/800 $Na_4P_2O_7$ and M/1000 $Na_5P_3O_{10}$, which depresses the jelly-strength to a value lower than that of control, additions of these phosphates have enhancing effects on the jelly-strength of Kamaboko especially in the case of singular use.

ヨードカリ[1),2)]，塩化マグネシウム[2)]，燐酸ソーダ[1),3)]，ピロ燐酸ソーダおよびトリポリ燐酸ソーダ[3)]をかまぼこすり身に添加するとかまぼこの足はかなり補強されることを述べた。しかし，かまぼこの足を補強するこれらの塩類も，ある濃度においてはかえつてかまぼこの足を低下させることを明らかにした[2),4)]。一般に塩類は足補強効果のある塩類といえどもある濃度ではかえつてかまぼこの足を低下させる。そしてこの濃度は塩類によつて異なるが，各々塩類には一定した濃度であつて計算式[2),4)]によつて計算することができる。KI, $MgCl_2$, K_2SO_4, K_2HPO_4, $Na_4P_2O_7$, $Na_5P_3O_{10}$ の塩類にあつては，これらの濃度はそれぞれ M/10, M/60, M/120, M/400, M/750 濃度である。(いまこれらの濃度をそれぞれそれらの塩類の足極小塩濃度と仮称する)。かまぼこすり身にある塩類をその足極小塩濃度だけ添加すれば，かまぼこの足の強さは低下されるが，いろいろの塩類をおのおのその足極小濃度において組み合わせてかまぼこすり身に添加すれば，かまぼこの足の強さは1種の塩をその足極小塩濃度だけ加えた場合の2倍，3倍も足が低下するだろうか(第一問)。

かまぼこすり身に塩類を添加するとある濃度で足の強さに極小値を示す。しかもこの足の強さの極小値は正燐酸塩では3個，ピロ燐酸塩では4個，トリポリ燐酸塩では5個存在する。実用的に燐酸塩類を使用する場合，特に各種燐酸塩の混合塩を使用する場合には，使用塩類の濃度がこの足極小濃度にならないように使用しなければならないこととなる。したがつてその使用法はかなりむづかしい。このような使用上の憂慮を全く除くためには使用する塩類の濃度をいづれも第1足極小塩濃度以下の低濃度で使用すればよい。X[2)]，XI[4)] 報の結果から判るように，おのおの塩類は第1足極小塩濃度以下の濃度においてもかなり足補強効果がある。したがつて第1足極小塩濃度以下の低濃度の単独塩添加ではその足補強効果は余り期待できないが，数種類組み合わせ使用するとその足補強効果はどのようになるだろうか(第二問)。

以上二つの事柄について試験を行つたのでその結果と考察について報告する。

実 験 方 法

i)，かまぼこ製造法: 実験1では市販のかまぼこすり身を購入して使用した。そのすり身の組成はハモ肉40%，キグチ肉 30%，クログチ 25%，サメ肉 5% よりなる魚肉に外掛け小麦澱粉 10% と水 20%，食塩約 2.3% と適度の調味料(砂糖，ミリン，グルタミン酸ソーダ)を加えてねり上げたものである。実験2においては魚肉としてはハモ肉のみを使用した。すなわちハモ肉 70g に馬鈴薯澱粉 7g，水 15cc，食塩 3g を加えてすり身を作つた。かまぼこの製造条件は X[2)]，XI[4)] 報の実験と全く同じである。

ii)，足の測定法および pH 値の測定法: X[2)]，XI[4)] 報と全く同一方法によつた。

iii)，塩類の添加方法: 塩類の添加量はすべてかまぼこすり身 1kg に対する mol 濃度で表わす。

実験結果とその考察

1. $MgCl_2$, KI, Na_2SO_4, $Na_4P_2O_7$, $Na_5P_3O_{10}$ の塩類を単独にまたは組み合わせてそれぞれこれらの塩類がかまぼこの足の強さに極小値を与える濃度だけ，すり身に添加してかまぼこを作つた場合のかまぼこの足:

上記の塩類がかまぼこの足の強さに極小値を与える濃度は X[2)]，XI[4)] 報から明らかである。よつて KI は M/10, $MgCl_2$ と Na_2SO_4 は M/60, $Na_4P_2O_7$ は M/400, $Na_5P_3O_{10}$ は M/750 濃度をすり身に添加して実

験を行なつた。今これらの塩類をそれぞれ上記の濃度に添加して作つたかまぼこの足の強さを KI, Mg., N. S., P. P., T. P. の略号で表わし，M/60 $MgCl_2$ と M/400 $Na_4P_2O_7$ を同時に加えたものの足の強さを Mg. + P. P. というように表わすとその結果は Fig. 1 のようになる。

i)，これらの塩類を単独で添加した場合: P.P. Na, T. P. Na を添加したかまぼこではその足は対照より強いが，他の場合にはすべて対照より足が弱い。 X[2] 報の Fig. 1, Fig. 2 の実験から判るように，$MgCl_2$ は M/60 濃度付近で足の強さに極小値を与える。その足の極小値が対照の足より強いか弱いかということは，かまぼこ原料の魚種，特にその魚肉の pH によつて異なるようである。この実験では $MgCl_2$ を M/60 添加したかまぼこの方が対照より足が弱い。$MgCl_2$ は pH の高い側（7.0 以上）では足補強効果が強いので X 報[2] の Fig. 1 から判るように，Fig. 1 の実験ではその極小値における足が対照より強くなつている。しかし本実験および X[2] 報の Fig. 2 のようにかまぼこ製品の pH が低いもの（6.9 以下）では足の極小値は対照より弱くなる。P. P. Na, T. P. Na の場合にも $MgCl_2$ と同様のことがいえる。P. P. Na, T. P. Na の添加濃度による足の変化においては，P. P. Na は M/400, T. P. Na は M/750 濃度付近で足に極小値が見られる。しかし P. P. Na, T. P. Na はアルカリ性が強いため，中和されていないこれらの塩を添加すると，かまぼこの pH がわずかではあるが上昇する上に，P. P. Na, T. P. Na は足補強効果が強いのでこれらの塩類添加による極小値は一般に対照の足よりも強くなる。本実験の結果からもこのことは明らかである。

M/10 KI および M/60 Na_2SO_4 を添加したものでは対照より足が低下している。

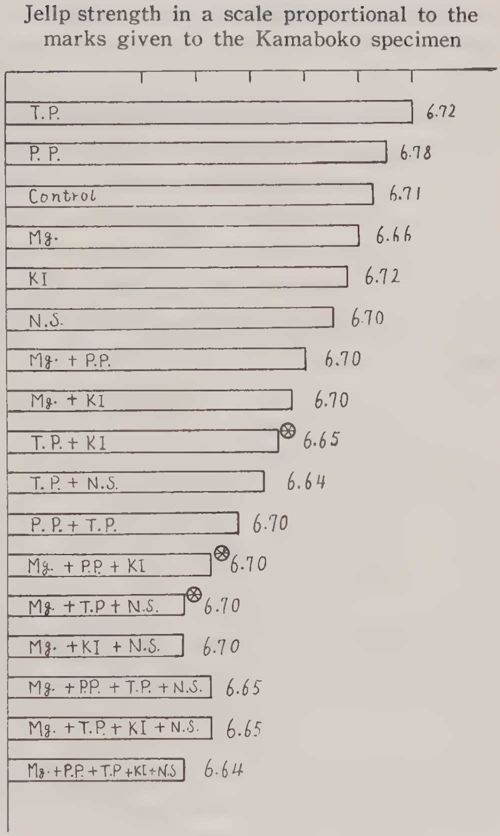


Fig. 1. Comparative jelly-strengths of Kamaboko prepared by adding various salts separately or in combination, each salt being used at a concentration which gives rise to a minimum jelly-strength. T.P., P.P., Mg., KI, N.S. and sums thereof stand for jelly-strengths realized by using M/750 $Na_5P_3O_{10}$, M/400 $Na_4P_2O_7$, M/60 $MgCl_2$, M/10 KI, M/60 Na_2SO_4 and mixtures thereof, respectively. Concentration of salt is shown as number of moles of salt added to 1 kg of raw fish paste. The numerals in the figure indicate pH values of Kamaboko specimens. Mark means that the Kamaboko specimen was attended by a remarkable deformation owing to an excessive fluidity of raw paste.

ii)，2 種類組み合わせて添加した場合: Fig. 1 から判るように 2 種類添加したものは例外なく対照より足がかなり低下する上に，これらの塩を単独に添加したものよりすべて足は弱い。特に注目されるのは P. P. Na, T. P. Na は単独添加では対照より足が強く Fig. 1 中一番足が強いにかかわらず P. P. Na + T. P. Na は 2 種類添加のものの中で最低となつている。かく最低になる理由は明らかでないが，P. P. Na および T. P. Na は単独ではたとえ極小値を与える場合でもその足の極小値は対照より強いが，極小塩濃度の両者が共存する場合にはその足は対照より著しく低下する。

先[5]に P. P. Na と T. P. Na の混合塩はある比率では著しく足を強めるが，また反面ある比率の混合塩ではかえつて対照より足が低下することを示したが，本実験の結果も全く同様である。

iii), 3種類組み合わせて添加した場合: 3種類添加した場合にはすべて2種類添加した場合よりも足は弱くなつている。i), ii), iii) の実験結果よりつぎのことがいえる。

塩類をそれぞれその塩類の足極小塩濃度に等しいだけ添加すれば，1種類よりも2種類，2種類よりも3種類添加した方が足の低下が著しくその低下作用は加算的に増加するようである。

iv), 4〜5 種類添加した場合: Fig. 1 の結果を見ると，4種類添加した場合には3種類添加の (Mg. + T. P. + N. S.) および (Mg. + KI + N. S.) の場合より足は強くなつている。4種類添加のものと3種類添加のものはかまぼこ製品の硬さがかなり異なるようであつて，4種類の塩類を添加したものの方が硬い。3種類，4種類添加したものは対照に比較して著しく足が低下しているためその足がはなはだ弱いので比較が困難であつて，硬さの強い方が足が強いかのように感ずる傾向があるので，このような結果になつたのではないかと考えられる。4種類の塩を添加したものは3種類の塩を添加したものに比較して何故にかまぼこ製品が固くなるのかはその理由は不明である。

4種類の塩類を添加したものと5種類の塩類を添加したものでは硬さがほぼ等しいので足の比較は容易であつて，本実験の結果も (Mg. + P. P. + T. P. + N. S.) ≒ (Mg. + T. P. + KI + N.S.) ＞ (Mg. + P. P. + T. P. + KI + N. S.) というようになつている。したがつて5種類の塩類をそれぞれその塩類の足極小濃度だけ添加したものは，同じく4種類の塩類を添加したものより足が低下している。

iii) で「塩類をそれぞれその塩類の足極小濃度に等しい濃度だけかまぼこすり身に添加すると，1種類の添加よりも2種類，2種類の添加よりも3種類と種類が増加するほど足が著しく低下する」ということを述べたが4種類，5種類の塩類添加においても同様のことがいえる。

v), これらの塩類を添加した場合のすり身の様相: KI, $MgCl_2$, P. P. Na, T. P. Na を添加するといずれもすり身は軟らかくなる。しかし KI, $MgCl_2$ はすり身にだれを余り起させないが，P. P. Na, T. P. Na はだれを起させる。表中 ⊗ 印のあるものは特に "だれ" が甚しいものである。"だれ" は P. P. Na または T. P. Na に $MgCl_2$ か KI の混つたものが著しい。これは $MgCl_2$, KI の添加は余り "だれ" を起させないが，すり身を軟らかくするために P. P. Na または T. P. Na に $MgCl_2$ か KI が混入すれば $MgCl_2$ または KI が P. P. Na, T. P. Na の "だれ" を促進するような結果になるからだと考えられる。Na_2SO_4 はすり身をやや固くする傾向があり，かまぼこ製品の硬さも増大せしめる。

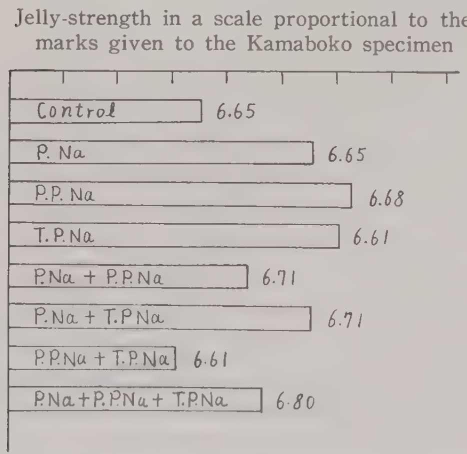


Fig. 2. Comparative jelly-strengths of Kamaboko prepared by adding various phosphates separately or in combination, each phosphate being used at a concentration lower than that which produces a minimum jelly-strength. P. Na, P. P. Na, T. P. Na and sums thereof stand for jelly-strengths achieved by using M/360 Na_2HPO_4, M/800 $Na_4P_2O_7$, M/1000 $Na_5P_3O_{10}$ and mixtures thereof, respectively. The numerals in the figure indicate pH values of Kamaboko specimens.

2. かまぼこすり身に K_2HPO_4, $Na_4P_2O_7$, $Na_5P_3O_{10}$ の塩類をおのおのその第1足極小濃度以下の低濃度で組み合わせて添加した場合: 塩類は足補強効果の強い燐酸塩類とか KI のような塩類でも，ある濃度ではかえつて足を低下せしめる。単独塩として使用する場合にはそれほどではないが，上にも述べたように，数種類同時に使用する場合には，その使用法のいかんによつてはかえつて著しく足が低下する。これらの憂慮をなくするためにはいろいろな塩類を第1足極小濃度以下の濃度で使用すると良いこととなる。

前報[4] の実験結果から第1足極小濃度以下の低濃度でかなり足補強効果があるので，中和しないものを組み合わせて同時に使用すると非常に足補強効果の強い混合塩ができるのではないかと考えて M/360 の Na_2HPO_4, M/800 の $Na_4P_2O_7$ および M/1000 の $Na_5P_3O_{10}$

をすり身にそれぞれ単独または2種，3種を同時に添加したかまぼこの足の強さを調べた。その結果はつぎの Fig. 2 の通りである。ただし Na_2HPO_4 を M/360 添加したかまぼこの足を P. Na, M/800 の $Na_4P_2O_7$, M/1000 の $Na_5P_3O_{10}$ を添加したかまぼこの足をそれぞれ P. P. Na, T. P. Na の略号で表わす。

この結果から明らかなように，いづれもこれらの塩類は単独使用の場合に足補強効果が最も強い。2種類，3種類の塩類を組み合わせて添加したものはいづれも単独塩の場合より足は低下する。しかし P. P. Na + T. P. Na を除いてはすべて塩類を添加したものの方が無添加のものより足が強い。特に注目されるのは P. P. Na + T. P. Na では著しく足が低下して対照より足が弱いことである。また pH の値も一番低い。理由は不明であるが P. P. Na, T. P. Na は第1足極小濃度以下の低濃度においても両者が共存するとかえつて足が低下する。このことは先の実験1において，M/400 の P. P. Na と M/750 の T. P. Na を同時に添加すれば著しくかまぼこの足が低下させられる事実とともに非常に興味あることである。これらの事実は足低下作用の加算性が低濃度域においても成立つことを物語つていると思われる。

要　　約

1. M/10 の KI, M/60 の $MgCl_2$ と Na_2SO_4, M/400 の $Na_4P_2O_7$ および M/750 の $Na_5P_3O_{10}$ をそれぞれ単独または組み合わせて，同時にすり身に添加してかまぼこを作りその足を調べた。その結果これらの塩類は2種類，3種類と添加される種類が増加されるほどかまぼこの足は著しく低下する。すなわち数種類の塩類をそれぞれその足極小濃度づつ同時に添加してかまぼこを作れば，かまぼこの足は著しく低下し，その低下の程度は種類の数の増大につれて加算的に増大する。

2. かまぼこすり身に M/360 の Na_2HPO_4, M/800 の $Na_4P_2O_7$ および M/1000 の $Na_5P_3O_{10}$ を添加してかまぼこを作りその足の強さを調べたところこれらの塩類はこのような低濃度ででも単独でかなり足補強効果がある。しかしこれら3者の中いづれか2種類または3種類を同時に添加すれば，その足補強効果は1種類添加の場合よりもかえつて低下する。

特に $Na_4P_2O_7$ と $Na_5P_3O_{10}$ を同時に添加したものは著しく足が低下し対照よりもかえつて足が弱くなる。

3. 以上のことから添加塩の足低下効果は一般に加算的に行なわれるものであると判断される。

終りに，絶えず御鞭撻と激励を給わつた京都大学の清水亘博士を初め，大阪市立衛生研究所長岡原国男博士ならびに同研究所の久保正徳，田中薫樹両博士に厚く感謝申し上げる。また本稿に対して色々有益な御助言をいただいた東京水産大学の平野弘教授ならびに研究遂行に協力された井原典子氏に深謝の意を表する。

文　　献

1) 岡村一弘他： 本誌，**24**, 12, 986～993 (1959).
2) 岡村一弘： 本誌，**26**, 6, 595～599 (1960).
3) 岡村一弘他： 本誌，**24**, 10, 821～826 (1958).
4) 岡村一弘： 本誌，**26**, 6, 600～604 (1960).
5) 岡村一弘他： 本誌，**24**, 12, 978～985 (1959).

漁撈用餌料に関する研究—I.

ブリふかせ釣り用餌について

金田尚志・小山武夫・石井清之助

(1960 年 3 月 3 日受理)

STUDY ON THE BAIT FOR FISHING—PART I. AN IMPROVED TYPE OF CHUM FOR YELLOWTAIL FISHING

Takashi KANEDA, Takeo KOYAMA and Seinosuke ISHII*

Chum prepared by use of squid liver oil is said to be quite efficient for attracting fish. The cost of the bait, which is considerable due to a large amount needed at each operation, could be reduced if fishermen were informed of the processing technique of the commercial chum or alike materials. With this view in mind the authors prepared a chumming bait on the basis of knowledge obtained from examination of the commercial products.

1) In preparation the minced meat of saury or anchovy was mixed with wet starch dregs from sweet potato on the same weight basis. Squid liver oil containing 1 percent soya lecithin was emulsified in the presence of 50 percent water. Ten percent of the emulsified oil was added to the mixed meat.

2) Experimental fishing for yellowtail was carried out in June 1959 to compare the present chum with ordinary chum in regard with fishing efficiency. The results revealed that the present chum apparently enabled the fishermen to catch a greater amount of fish at a lower cost than the ordinary chum did (Tables 1 and 2).

I. 緒　　言

釣り漁業において餌は極めて重要な地位を占めていることはいうまでもない。すなわち，餌の良否は直接漁獲量にひびき，漁家経済への影響は甚だ大きい。そのため，漁業者は昔から餌に対し幾多の考案を重ねている。

釣り漁業における餌の問題点をとりあげてみると，これらはつぎのごときものに分類されよう。すなわち，まず第1にいえることは餌付の悪い時に如何にして魚を餌に喰いつかせるかということである。この問題を解決するためには単に餌に関する研究ばかりでなく，潮の状態とか天候その他いろいろの要因を考察する必要があることは当然だが，餌のみについても考慮すべき問題がある。つまり極めて魚の嗜好に合つた餌が見出されれば，たとえいろいろの条件が多少悪くても魚は餌に向つて飛びかかるであろうということは考えられる。そのため現在使用している餌に満足することなく，さらに魚の好む餌を見出す研究が行われるべきと思う。第2には魚群を前にしていながら，餌がないために出漁できぬということがしばしばあるということである。この場合，最もその魚種に適合した餌がなくても，ある程度の漁獲があげられるような餌で，しかも何時でも常備しておけるような保存性のあるものが見出されればまことに好都合である。第3にはサバのハネ釣り漁業のように，多量の撒餌を使用する漁法においては使用した餌の代金が必要経費のうちの主要部分をしめ水揚げ価格の 20～30% にも当つてしまうということである。この撒餌の費用がたとえ 10% 下げられたとしても漁家経済におよぼす影響は非常に大きい。

---

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.).

東海区水産研究所業績 B 330 号

筆者等は上記のごとき餌に関する問題のうちいくつかでも解決したいと本研究を開始した。

上記のごとき問題を解決するための手掛りとなる文献は極めて少く，殆んどないといつても過言ではない。そこで，現在実際に使われている餌のなかから魚がとくに好むものを見出そうと試みた。この魚の嗜好に合つた餌の一つに古くから主として中国地方で使用されている油イカがある。これは主にタイの一本釣りに使用されている餌だが，地方によつてはあまり釣れすぎて資源を枯渇させる恐れがあるため禁止されているところもあると聞いている。

油イカの製造はふつう漁業者は行わず，特定の製造業者により行われており，その製法は秘密にされているが，大体のところはスルメイカの胴を開いて内臓を除き，半日ぐらい蔭干しにしたものをコウナゴ油とかサンマ油などに漬けて熟成させるようである。このほかイカを漬ける油はいろいろとあり，イカ肝油がよいとかイワシ油がよいなどともいうようだし，植物油を添加するところもあると聞いている。しかし筆者等が集めた情報の大部分は魚油であり，しかもこれらの魚油はいずれも不飽和性の大なる油であつた。そこで筆者等は，魚油に漬けたイカをタイが好むのは製造過程において魚油が酸化し，その結果生じた酸化生成物が有効なのではないかと考えた。そこで市販油イカから油を分ち，その性状を調べてみたが，とくに目立つ程の酸化は起つていなかつた。なお静岡県水産試験場の報告[1]によればコウナゴ油に浸漬したスルメイカ（市販品）は酢酸および酪酸を含むほか，時間の経過とともに揮発性塩基をも増すということである。また油イカのにおいを嗅いでみるとスカトールないしインドールを思わせるような臭気がする。そこで筆者等は油脂およびイカ肉の酸敗ないし軽度の腐敗により生じた各種成分の全部ないし一部をタイが好むのではないかと考えた。

このことを油イカを使用することなく証明しようと思い，スルメイカを内臓ごと細切し，イカ肝油に混じて放置し，イカを腐敗せしめて，その臭気をイカ肝油に移行せしめたところ，市販油イカ同様の臭気を持ちしかも一層強烈なものが得られた。本試料油および原イカ肝油ないしサンマ油を重合せしめたものなどを短冊型に切つた赤または桃色のフランネルに浸し，ブリふかせ釣りの餌として使用してみたところ，対照として用いたサンマ切り身とほぼ同様の効果を認めた。しかし，筆者等の行つた試験の範囲では油の違いによる差を認め得なかつた。

またブリふかせ釣りにおいては直接鈎につける餌よりも撒餌の方がはるかに多くの経費を必要とすることを知つたので，経費がかからず，しかも従来の撒餌同様ないしそれ以上の効果を有する餌を見つけようと試みた。そこで，前試験において魚油ないし肝油がかなりブリを誘引する作用があるように思われたのでこれを肉挽器にかけた魚肉中に混合し，さらに増量剤として澱粉滓を添加したものを作つた。なおこの際，海水中における油の分散を良好ならしめるため，添加した魚油は乳化剤を加え，乳化機を通して乳化油としたものを用いた。

この撒餌を千葉県勝浦市川津漁業会においてブリふかせ釣りに実際に使用してもらつたところ予期以上の効果をあげ，従来餌以上の成績が得られた。

II. 実 験 の 部

供試油： 市販イカ肝油に味の素 K. K. 製粗大豆レシチン 1% を加え加温溶解せしめたものに等量の水を添加し，乳化機を通して乳化せしめた。

澱粉滓： 市販サツマイモ澱粉滓（乾燥品）を水に一夜浸し，おから程度の状態としたものを使用した。

試験方法： 肉挽器にかけたカタクチイワシないしサンマに等重量の湿つた澱粉滓を加え，これに 10% 程度のイカ乳化肝油を混じ，よく混合せしめた。本試料に海水を加え，泥状としたものをコマセ袋に詰め，以下，従来餌と同様にしてブリふかせ釣りに用いた。この撒餌の海水中における分散状態はカタクチイワシのみのものよりも比重軽いため沈降速度が遅く，撒餌としての状態は極めてよいことが認められた。

試験場所その他： 千葉県勝浦市川津漁業会所属船万丸により試験操業を行つた。すなわち，昭和 34 年 6 月中 14 回出漁し，前記撒餌のみを使用してブリふかせ釣りを行つた。なおその水揚高を同月同日出漁した

同数乗組員（各船2名）の漁船4隻と比較したところ次表のごとき結果を得た。

Table 1. Results of test fishing.
第1表　試験結果

Name of fishing boat 船名	Amount of catch by species 水揚魚重量 (kg): Red sea-bream タイ (kg)	Centrophid fish メダイ (kg)	Amberjack ヒラマサ(kg)	Yellow tail ブリ (kg)	Total amount 合計 (kg)
Manmaru 万丸	158	74	274	197	703
Toyomaru (Control) 豊丸（対照）	77	110	198	92	467
Saheimaru (〃) 佐平丸（〃）	65	29	109	234	437
Tomimaru (〃) とみ丸（〃）	47	104	128	73	352
Awatamaru (〃) 粟田丸（〃）	167	93	284	58	602

Table 2. Amount and cost of bait used for chumming.
第2表　撒餌の使用量および金額

Name of fishing boat 船名	Amount by species and cost of bait fish 餌料用魚名，数量，金額: Saury サンマ (kg)	Anchovy カタクチイワシ (kg)	Cost (Yen) 金額(円)	Starch dregs 澱粉滓: Amount 数量(kg)	Price (Yen) 金額(円)	Emulsified cuttlefish liver oil 乳化油: Amount 数量(kg)	Cost (Yen) 金額(円)	Total cost (Yen) 金額総計(円)	Cost of bait per 1kg of catch (Yen) 水揚げ1kgに要した餌の値段（円）
Manmaru 万丸	33	168	7632	40	760	10	500	8892	12.65
Toyomaru (Control) 豊丸（対照）	62	222	10968	—	—	—	—	10968	23.48
Saheimaru (〃) 佐平丸（〃）	28	221	9290	—	—	—	—	9290	21.26
Tomimaru (〃) とみ丸（〃）	62	286	13272	—	—	—	—	13272	37.70
Awatamaru (〃) 粟田丸（〃）	334	78	18840	—	—	—	—	18840	31.30

以上の結果を見るに乳化油および澱粉滓を添加した撒餌の効果は非常に高く，明らかに他船を凌駕したことが認められた。また漁獲物に対する餌代も従来餌の平均価格の 45% 程度で足りることを知つた。

III. 考　察

以上の結果より考察するに，筆者等の考案したブリふかせ釣り用撒餌は値段を下げるばかりでなく，従来餌以上の効果を有するものと考えることができよう。

本試験においては乳化油原料としてイカ肝油を直接乳化せしめたものを使用したが，油イカ油のごとき臭気を帯びさせたものの効果についても検討する必要があると思う。さらに活動性魚類と各種臭気成分との関係などについての基礎的研究を行うことにより一層効果的な餌料が見出されると考えるが，これは今後に残された問題である。また最近過剰状態にあるマッコウ鯨油などが本撒餌に応用できれば好都合と思い，この点については目下試験中である。

著者等はブリふかせ釣りばかりでなくサバはね釣りに対してもこの撒餌を応用しようと試みており，さらにゆくゆくはカツオ一本釣りの撒餌も考案したいと考えている。

IV. 摘　　要

ブリふかせ釣りに使用する撒餌の価格を引下げるとともに漁撈効果を高める餌料につき研究し，つぎの結果を得た。

（1） イカ肝油に少量の大豆レシチンを添加し，乳化油を製し，これを魚肉摺身および澱粉滓の等量混合物に 10% 添加した。

（2） 本試料をブリふかせ釣りの撒餌として使用したところ従来餌以上の効果が認められるとともに撒餌代金を半額以下に削減せしめることができた。

本研究を行うにあたり漁撈試験に協力された千葉県勝浦市川津漁業会万丸船長吉清判治郎氏に衷心より謝意を表する。

文　　献

1） 未発表.

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—IX.

水，食品における腸球菌の生存能ならびに発育能

堀 江 進

(1960 年 4 月 6 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—IX.

VIABILITY OF ENTEROCOCCI IN WATERS AND FOODSTUFFS

Susumu HORIE*

Enterococci and coliform organisms were compared with each other in respect of the viability in well water and sea-water under various conditions.

A strain of *A. aerogenes* suspended in sterilized well water showed survival periods much longer than those of enterococci and *E. coli*. In well water, enterococci diminished more rapidly than *E. coli*, while in sea-water the former survived for a longer period.

No appreciable growth of enterococcal organisms was occasioned by the addition of a small amount of nutrient material, yeast broth (2% of polypepton and 0.3% of yeast extract) up to 250 ppm by volume, to the sterilized well water. To the contrary, even the addition of the broth in an amount as small as 25 ppm by volume concentration brought about a remarkable growth of *E. coli*.

When a small amount of sewage was inoculated in a natural water from well or sea, both the enterococcal and coliform organisms carried in with the sewage tended to diminish rapidly. Addition of a small amount of nutrient material to the raw sea-water inoculated with sewage could not confer on the water any ability of elongating the survival period of both organisms. On the other hand, a marked difference in viability was observed between bacterial flora in the case of well water; viz., no appreciable growth of enterococcal organisms occurred when the yeast dextrose broth (2% of polypepton, 0.3% of yeast extract and 0.5% of dextrose) was added even up to 1,000 ppm by volume to the test water, while growth of coliform organisms took place in the presence of the broth at a concentration of 100 ppm, the rate of multiplication being enhanced with increasing concentration of the broth added.

In incubations at 30°, 20° and 5°C of sliced tuna flesh contaminated with ditch-water population of coliform organisms increased more rapidly than that of enterococci. During a long storage period, enterococcal population in some frozen foodstuffs was rather consistent, while the number of coliform organisms markedly tended to decrease.

緒 言

水，食品等において，大腸菌群と腸球菌との菌数が必ずしも並行の関係にないことを前報[1)]で報告したが果して何れが糞便の汚染の程度を適確に表現するものであるかを検討するために，これら両菌群の水，食品等における生存能ならびに発育能について比較しておくことは甚だ重要であると考える。これらの細菌が外界の水等において発育能を全く欠くものであれば，水に混入したとしても時間の経過とともに死滅し菌数は漸減してゆくであろう。もし反対に容易に発育し得ることができるものであれば，時間の経過とともに菌数は逆に増大し，さらにそれが他の場所に移動した後に，二次，三次の発育，移動を繰り返すことによつて，その分

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

布が汚染と無関係に拡大してゆく可能性が考えられる。したがつて一般に外界で発育し難い細菌でなければ好適な汚染指標とはなり得ない。また生存期間については，これが極端に短いものであれば，もとより指標細菌としての意味をなさないが，逆に非常に長期にわたる場合には新しい汚染の判定は全く不可能となる。

大腸菌群の水，海水，土壌等における生存能，発育能等については BEARD 等[2]，VACCARO 等[3]，BUCK 等[4]，FRASER 等[5]，NUSBAUM 等[6]，SKINNER 等[7] の報告がある。大腸菌群と腸球菌あるいは連鎖球菌との生存能あるいは発育能の比較研究としては，水の場合について SAVAGE 等[8]，ALLEN 等[9]，土壌について MALLMANN 等[10] の報告があり，概して腸球菌は大腸菌群に比べ外界で発育し難く，生存期間も短いとみられているが，この点については更に本格的な検討を必要とする。

本研究では井戸水，海水，下水等における大腸菌群と腸球菌との生存能ならびに発育能を比較したが，まず単独菌株の純培養の条件の場合を検討し，次いでより実際的な条件，すなわち生の井戸水あるいは海水に少量の下水が混入した場合について観察した。何れの場合にも小濃度の有機栄養物質が井戸水あるいは海水に添加された場合の，生存期間，発育度におよぼす影響について重点的に比較検討した。また前報[1] における観察結果に関連して，まぐろの刺身を放置した場合における両菌群の発育状態，ならびに数種の食品の冷凍貯蔵中における菌数変化等についても観察を行なつた。

実験方法

1. 供試菌株

当教室保存菌株の中より *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* 各1株，腸球菌の I，II，III 型の各1株を使用した。

2. 接種菌液

すべての実験を通じて，最初に水あるいは食品に菌液を接種したが，その菌液としては上記菌株の純培養菌液あるいは生の下水，どぶ水等を使用した。

3. 大腸菌群ならびに腸球菌の菌数測定法

滅菌処理を行なつていない水あるいは食品に生の下水またはどぶ水を接種した実験の場合には，前報[1] に記載した方法に準じ両菌群の MPN 値を測定したが腸球菌測定における完全試験は省略した。しかし，まぐろ肉の実験に限り両菌群の共通の推定試験培地として乳糖ブイヨンを用い，大腸菌群の場合はこれより BGLB に移植し，腸球菌の場合は EAC broth に移植し，以下の操作は上記の方法に準じた。滅菌処理した水に純培養菌を接種した実験においては，一般に推定試験のみの結果から MPN 値を算出した。

実験結果

実験 1. 滅菌処理した井戸水．海水，下水における腸球菌および大腸菌群の単独純培養菌の生存能および発育能

前述の腸球菌3株，大腸菌群2株の yeast dextrose agar slant (1% ポリペプトン，0.5% 酵母エキス，1% ブドウ糖，0.5% NaCl，1.3% 寒天) における24時間培養菌を生理食塩水に懸濁し接種用菌液とした。井戸水，海水，下水をそれぞれ5本宛の綿栓した 1000 ml 容試験瓶に 500 ml 宛分注し，15 ポンド 15 分間滅菌したものに上記各菌液を数滴宛接種した。これら 15 本の瓶を 20°C の恒温器に長期間放置し，時間の経過にともなう菌数の変化を観察した。実験の結果を Table 1〜3 に示す。

井戸水では全菌株ともほとんど発育はみられなかつた。生存期間の最も短いのは腸球菌III型株で8日後には死滅した。I型株は 28 日，II型株は 41 日，*E. coli* は 90 日後に死滅していたが，*A. aerogenes* では 255 日後なお生存していた。海水の場合にもやはり全菌株とも発育はみられぬが，井戸水の場合とやや趣きを異にし，腸球菌の生存期間は井戸水におけるより長くなり，死滅をみとめたのは III 型株で 90 日，I，II 型株では 120 日後であつた。これに対し，*E. coli* は逆に井戸水よりも早く，28 日後には死滅していた。*A. aerogenes* は井戸水と同様 255 日後なお生存した。下水においては以上の場合と全く異なり，腸球菌の

Table 1. Viability of enterococci and coliform organisms in sterilized well water.

Days incubated \ Organism	Enterococcus			Coliform	
Type	I	II	III	Esch. I	Aerob. I
Strain No.	Y 137	N 80	S 1	C 91	C 4
0	2,400,000	930,000	4,300,000	2,400,000	4,300,000
1	2,400,000	1,500,000	240,000	24,000,000	2,900,000
2	2,400,000	930,000	360	4,300,000	930,000
4	930,000	240,000	36	2,400,000	43,000
8	430,000	2,100,000	0	93,000	430
15	3.6	93,000	0	910	240
28	0	15		43	24,000
41	0	0		36	24,000
57		0		240	7,500
90				0	93,000
120				0	24,000
157					28
214					430
255					930
293					0
356					0

Figures are expressed as MPN per 100 m*l*.

Table 2. Viability of enterococci and coliform organisms in sterilized sea-water.

Days incubated \ Organism	Enterococcus			Coliform	
Type	I	II	III	Esch. I	Aerob. I
Strain No.	Y 137	N 80	S 1	C 91	C 4
0	2,400,000	4,300,000	9,300,000	15,000,000	4,300,000
1	930,000	1,200,000	4,600,000	4,300,000	9,300,000
2	2,400,000	2,400,000	24,000,000	930,000	4,300,000
4	2,400,000	430,000	4,300,000	93,000	2,400,000
8	750,000	430,000	1,500,000	4,300	430,000
15	930,000	43,000	150	43	210,000
28	240,000	9,300	75	0	430,000
41	460,000	930	43	0	240,000
57	24,000	150	23		150,000
90	15	6.1	0		4,300
120	0	0	0		1,100,000
157	0	0			240,000
214					24,000
255					150
293					0

Figures are expressed as MPN per 100 m*l*.

Table 3. Viability of enterococci and coliform organisms in sterilized sewage.

Organism / Days incubated	Group	Enterococcus			Coliform	
	Type	I	II	III	Esch. I	Aerob. I
	Strain No.	Y 137	N 80	S 1	C 91	C 4
0		2,400,000	7,500,000	15,000,000	2,400,000	2,400,000
1		930,000	2,400,000	240,000,000	9,300,000	4,300,000
2		930,000	110,000,000	460,000,000	93,000,000	>2,400,000,000
4		750,000	93,000,000	1,500,000,000	9,300,000,000	46,000,000,000
8		150,000	210,000,000	9,300,000,000	4,300,000,000	4,300,000,000
15		390,000	240,000,000	4,300,000,000	24,000,000,000	24,000,000,000
28		240,000	240,000,000	430,000,000	15,000,000,000	2,400,000,000
41		93,000	240,000,000	240,000,000	4,300,000,000	2,400,000,000
57		93,000	240,000,000	240,000,000	11,000,000,000	1,500,000,000
90		4,300	93,000,000	43,000,000	430,000,000	1,500,000,000
120		24,000	24,000,000	43,000	150,000,000	7,500,000
157		7,500	9,300,000	15,000	9,300,000	930,000
214		15,000	430,000	4,300	46,000,000	240,000
255		9.1		2,100	1,500,000	930,000
293		0	43	0	1,500,000	2,300
355			0		93,000	3.6
435					15,000	0

Figures are expressed as MPN per 100 m*l*.

I 型株以外は何れも発育を示した。中でも大腸菌群の 2 株が最も顕著で腸球菌III型株がこれについでいる。II 型株も最初の菌数の 10 倍以上に増加した。生存期間は何れも著しく延長され，腸球菌 I および III 型株が 255 日，II 型株は 293 日後なお生存した。また *E. coli* は *A. aerogenes* よりも生存期間が延び，*A. aerogenes* の死滅をみとめた 435 日後になお MPN 15,000 を示した。

実験 2. 微小濃度の有機栄養物質を含有した滅菌井戸水における腸球菌および大腸菌群の単独純培養菌の発育度

上記の実験結果によれば供試菌株は井戸水，海水等では発育しないが，下水のように有機栄養物質を含有する場合には大腸菌群はもちろん，腸球菌の中の 2 株も発育するのを知つた。つぎに井戸水に極く小さい種々の濃度の有機栄養物質を含有させた場合における，これら菌株の発育の状態を比較した。有機栄養物質として yeast broth (2% ポリペプトン，0.3% 酵母エキス) を種々の濃度に含有させた井戸水を用い，実験 1 に準じて，前記 5 株のそれぞれの純培養菌液を接種し，16°C に放置した場合の菌数の変化を観察した。本実験では 300 m*l* 容三角フラスコを用い，液量を 200 m*l* とし，観察は 14 日間で打ち切つた。実験結果を Table 4 に示す。

腸球菌の 3 株は 250 ppm 以下の場合にはほとんど発育していないが，*E. coli* は 25 ppm で顕著に発育し，*A. aerogenes* は 250 ppm で発育した。1000 ppm 以上では腸球菌の 3 株も総て発育し，その中 III 型株の菌数増加が最も大であつたが，大腸菌群の 2 株はさらに旺盛な発育を示した。

実験 3. 生の下水，および少量の下水の混入した井戸水，海水における腸球菌および大腸菌群の生存期間

自然界では汚染指標細菌が純培養の状態で存在することはもちろんあり得ない。そこでより実際的な両菌群の水中における生存能を観察するために，生の井戸水，海水に少量の生の下水が混入した場合，下水とともに混入した両菌群菌数がいかに変化するかを観察した。またこれと並行に生の下水そのものについても観

Table 4. Effect of small addition of nutrient material to well water on viability of some strains of enterococcal and coliform organisms suspended in well water.

	Organism	Days incubated	Concentration of added broth (ppm) 0	25	100	250	1,000	2,500
Enterococcus group	Type I (Y 137)	0	43,000	93,000	24,000	93,000	75,000	39,000
		4	24,000	240,000	23,000	240,000	240,000	43,000
		14	0	9,300	43,000	430,000	4,300,000	24,000,000
	Type II (N 80)	0	93,000	150,000	75,000	93,000	75,000	93,000
		4	24,000	23,000	93,000	93,000	43,000	430,000
		14	0	9,300	2,400	24,000	2,400,000	9,300,000
	Type III (S 1)	0	240,000	430,000	430,000	390,000	460,000	430,000
		4	24,000	430,000	430,000	240,000	15,000,000	43,000,000
		14	0	93,000	4,300	93,000	24,000,000	2,400,000,000
Coliform group	Esch. I (C 91)	0	430,000	460,000	240,000	750,000	430,000	390,000
		4	93	930,000,000	2,400,000,000	93,000,000	2,400,000,000	4,300,000,000
		14	9.1	43,000	930,000,000	240,000,000	2,400,000,000	7,500,000,000
	Aerob. I (C 4)	0	750,000	930,000	430,000	930,000	930,000	460,000
		4	120	2,400	430,000	9,300,000	930,000,000	9,300,000,000
		14	9.1	43	15,000	93,000,000	93,000,000	430,000,000

Figures are expressed as MPN per 100 m*l*.

察した。すなわち井戸水，海水の 1000 m*l* 宛を 2000 m*l* 容綿栓試薬瓶に入れ，おのおのに 1 m*l* の下水を混合した。また下水 1000 m*l* を同様の瓶にいれた。これら3本の瓶を 20°C の恒温器に放置した場合の菌数の変化を観察した。実験の結果を Table 5 に示す。

実験1あるいは2の純培養菌の場合と異なり，両菌群とも概して速かに死滅した。すなわち海水では両菌群とも9日以内に死滅した。井戸水では腸球菌が 17 日後死滅していたのに対し，大腸菌群はわずかに残存する程度であった。生の下水では腸球菌の数は漸次減少し，大腸菌群は初期に若干の増殖をみたが，両者とも 66 日後には死滅をみとめた。

Table 5. Viability of enterococci and coliform organisms in raw sewage, contaminated well water and sea-water.

Days incubated	Sewage water Enterococci	Sewage water Coliforms	Well water Enterococci	Well water Coliforms	Sea-water Enterococci	Sea-water Coliforms
0	9,300,000	9,300,000	4,300	9,300	7,500	9,300
1	2,100,000	75,000,000	930	4,300	2,400	930
2	4,300,000	240,000,000	1,500	4,300	1,500	930
4	430,000	2,400,000	150	430	430	9.1
9	43,000	930,000	3.6	430	0	0
17	2,400	150,000	0	240	0	0
34	9.1	9,300		0		
66	0	0		0		

Figures are expressed as MPN per 100 m*l*.

実験 4. 微小濃度の有機栄養物質を含有する井戸水あるいは海水に下水が混入した場合における腸球菌および大腸菌群の生存期間ならびに発育度

実験2において，微小濃度の有機栄養物質を含有する滅菌井戸水に単独菌株の純培養菌液を接種した場合におけるそれぞれの菌株の発育度について観察したが，次に生の井戸水，海水を用い，生の下水を接種した場合について観察を行なつた。本実験では実験2の yeast broth の代りに yeast dextrose broth (2% ポリペプトン，0.3% 酵母エキス，0.5% ブドウ糖) を用い，放置温度を 20°C とした。実験の結果をTable 6 および 7 に示す。

Table 6. Effect of small addition of nutrient material on viability of enterococci and coliform organisms in well water contaminated with sewage.

Organism	Days incubated	Concentration of added broth (ppm) 0	2.5	10	25	100	250	1,000	2,500	10,000
Enterococci	0	430	150	150	93	240	430	240	150	150
	4	93	150	93	43	390	750	930	15,000	75,000
	10	9.1	23	23	9.1	9.1	0	3.6	430	4,300
	20	0	0	0	0	0	0	0	9.1	1,500
	37								0	3
	81									0
Coliforms	0	930	750	390	930	930	750	430	430	930
	4	430	430	430	1,500	43,000	430,000	4,300,000	43,000,000	150,000,000
	10	43	430	150	240	9,300	43,000	930,000	2,400,000	2,300,000
	20	0	43	23	240	2,400	93,000	150,000	150,000	1,200,000
	37		0	0	0	240	9,300	15,000	43,000	240,000
	81					0	0	4,300	93,000	93
	137							23	2,400	240
	174							9.1	240	23
	216							0	0	0

Figures are expressed as MPN per 100 ml.

Table 7. Effect of small addition of nutrient material on viability of enterococci and coliform organisms in sea-water contaminated with sewage.

Organism	Days incubated	Concentration of added broth (ppm) 0	2.5	25	250	2,500
Enterococci	0	240	150	93	150	930
	4	0	3.6	7.3	15	0
	10	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0
Coliforms	0	930	750	240	390	2,400
	4	0	3.6	9.1	9.1	430
	10	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0

Figures are expressed as MPN per 100 ml.

井戸水において腸球菌は 2500 ppm 以上でわずかに発育したのに対し，大腸菌群は 100 ppm でもわずかに発育し，1000 ppm 以上では旺盛に発育した。1000 ppm 以下の濃度は腸球菌の生存期間にも影響を与えず，何れも 20 日後には死滅したが，2500 ppm 以上では若干生存期間が延長した。大腸菌群では 2.5 ppm ですら生存期間を延長する効果がみとめられ，濃度とともにその効果は漸増し，1000 ppm 以上では 174 日後なお残存した。海水の場合には井戸水と全く趣きを異にし，腸球菌と大

腸菌群との区別なく，何れも 2500 ppm までの濃度では全く発育を示すことなく，死滅もまた急速で 4〜10 日間にすべて死滅した。

実験 5. 汚染したまぐろ肉を 30°C, 20°C, 5°C に放置した場合の腸球菌と大腸菌群との発育状態の比較

前報で述べたごとく，まぐろの刺身において大腸菌群は腸球菌に比べ非常に菌数が大であり，その原因の一つとして大腸菌群の方がまぐろ肉において旺盛に増殖することが考えられる。今回その点を明らかにするため，つぎの実験を行なつた。きはだまぐろの肉を小形の刺身の状態に細切し，どぶ水に5分間浸漬して汚染し，水切りした後，一部の試料を以つて直ちに両菌群の菌数を測定し，残余の試料は等分してそれぞれ大型シャーレに入れ，30°C, 20°C, 5°C の恒温器に放置した。その後時間の経過にともなう両菌群菌数の変化を観察した。実験の結果を Table 8 に示した。

Table 8. Viability of enterococci and coliform organisms in sliced tuna flesh during incubation at 30, 20, and 5°C.

Hours incubated	30°C		20°C		5°C	
	Enterococci	Coliforms	Enterococci	Coliforms	Enterococci	Coliforms
0	730	4,300	730	4,300	730	4,300
4	910	39,000	360	24,000		
7	43,000	2,400,000	360	24,000		
24			75,000	430,000,000	910	93,000
48					360	43,000
96					360	24,000

Figures are expressed as MPN per 100 g.

夏季の気温である 30°C の場合，腸球菌は4時間では発育せず，7時間ではある程度の発育を示したが，大腸菌群は4時間ですでに若干発育するもののごとくで，7時間後には明瞭に発育し腸球菌よりもかなり大なる菌数を示した。20°C の場合では，腸球菌は7時間まで全く発育せず，24時間後には若干発育したのに対し，大腸菌群の発育も7時間までは明瞭ではないが，24時間後には顕著に発育し，腸球菌に比べ甚だ大きい菌数に達した。5°C に貯蔵した場合には4日間にわたり腸球菌の発育は全く認められなかつたのに対し，大腸菌群は 24 時間後に若干発育した。以上の結果から，何れの温度においても，まぐろ肉で大腸菌群は腸球菌よりも旺盛な発育能を有することをみとめた。

実験 6. 食品の冷凍貯蔵中における腸球菌と大腸菌群との菌数変化の比較

生鮮魚介類，かき，あさり，はまぐりのむき身，きはだまぐろ，まかじきの肉塊を準備し，介類はそのまま，魚肉は小形の刺身の状態に細切し，何れも下水中に 10 分間浸漬した後よく水切りした。これをそれぞれ多数のポリエチレンの袋に約 60g 宛つめ，“heat seal” を行ない，−25°C の凍結室に3時間入れ凍結した後，−18〜−20°C の冷蔵庫に移し長期間にわたり貯蔵した。細菌調査に際してはその都度各1袋宛をとり出し使用した。またえんどうまめ，さやえんどうにいても同様の実験を行なつた。この場合，えんどうまめは莢からとり出し，さやえんどうはそのままで “blanching” をした後，下水浸漬処理を行なつた。実験の結果を Table 9 および 10 に示した。

Table 9 に示されるごとく，魚介肉の場合 370 日間の冷凍貯蔵後なお腸球菌々数の減少はみられなかつたが，大腸菌群では貯蔵中漸次死滅する傾向がみられ，凍結前には腸球菌より大きかつた菌数が370 日後には逆に小さくなつている。Table 10 に示すごとく，豆類の場合では最初の凍結時に大腸菌群の著しい減少が見られ，その後の貯蔵中にも漸減したが，腸球菌は234 日後なお凍結前とほとんど変らぬ菌数を示した。

Table 9. Effect of freezing on viability of enterococci and coliform organisms in shellfish or fish.

Days of storage	Oyster		Short-necked clam		Clam		Yellow-fin tuna		Striped marlin	
	Entero-cocci	Coli-forms	Entero-cocci	Coli-forms	Entero-cocci	Coli-forms	Entero-cocci	Coli-forms	Entero-cocci	Coli-forms
Initial	46,000	240,000	24,000	240,000	15,000	2,400,000	24,000	460,000	15,000	430,000
1	93,000	43,000	210,000	24,000	43,000	240,000	24,000	93,000	24,000	24,000
8	43,000	240,000	43,000	7,500	24,000	75,000	64,000	24,000	9,300	43,000
18	24,000	24,000	15,000	21,000	93,000	9,300	9,300	24,000	43,000	93,000
32	43,000	150,000	43,000	9,300	4,300	15,000	120,000	93,000	24,000	46,000
50	7,500	24,000	21,000	2,400	4,300	43,000	43,000	15,000	75,000	24,000
90	24,000	93,000	24,000	43,000	9,300	150,000	43,000	93,000	24,000	24,000
137	43,000	75,000	43,000	9,300	15,000	29,000	43,000	15,000	43,000	9,300
185	43,000	9,300	93,000	2,400	24,000	24,000	24,000	24,000	7,500	4,300
227	43,000	7,500	4,300	930	9,300	2,400	9,300	43,000	9,300	43,000
290	9,300	4,600	15,000	4,300	9,300	2,400	9,300	2,400	46,000	9,300
370	46,000	2,400	24,000	2,400	24,000	2,400	46,000	4,300	15,000	4,300

Figures are expressed as MPN per 100g.

Table 10. Effect of freezing on viability of enterococci and coliform organisms in peas.

Days of storage	Green peas		Garden peas	
	Enterococci	Coliforms	Enterococci	Coliforms
Initial	9,300	460,000	24,000	1,100,000
1	4,300	9,300	39,000	15,000
8	2,400	9,300	4,300	1,500
49	9,300	2,400	4,300	4,300
91	930	1,500	24,000	1,500
154	2,400	2,400	4,300	930
234	2,400	930	4,300	430

Figures are expressed as MPN per 100g.

考　　察

Table 1～4 に示されるごとく，腸球菌あるいは大腸菌群の菌株が純培養の状態で井戸水，海水等に存在する場合においては，菌の生存ならびに発育は主として栄養物質の不足によつて制限されているようである。このことは井戸水に有機栄養物質を添加した場合その濃度に応じて菌の生存，発育が旺盛となること，あるいは有機物を豊富に含有する下水でやはり旺盛な生存，発育がみられることから容易に考えられる。供試5菌株の中では *A. aerogenes* が栄養欠乏状態に最も耐性が強いようである。Table 4 に示されるごとく，一般に添加された有機物の濃度の低い場合まず生存期間の延長効果が現われ，発育を起すにはさらにある程度高い濃度の有機物を必要とするが，供試菌株の中，*E. coli* のみが他菌株の増殖し得ない低濃度において旺盛に発育し得ることは注目される。Table 5～7 によれば，非滅菌すなわち生の井戸水，海水に少量の下水が混入した状態においては，その中に混在する腸球菌ならびに大腸菌群の生存，発育は前記の栄養物質の欠乏よりもむしろ別の条件により著しく影響されることが明らかである。特に海水中では，有機物の添加に関係なく両菌群とも 10 日以内に死滅している。ZO BELL[11] その他の人々によつて既にいわれている如く，この海水の殺菌作用は無機塩類に関係なく，熱に不安定な海水成分によることは明らかで，一応海水に存在する細菌その他の微生物による拮抗現象と考えてよかろう。井戸水についてみると，有機物を添加しない場合には両菌群の生存期間に明らかな差はみられず，何れも短期間に死滅しているが，これに小濃度の有機物が添加された場合には，両菌群の生存期間あるいは発育度の差が明らかに現われる。すなわち，腸球菌は yeast dextrose broth を 1000 ppm の濃度（有機物としての濃度に換算すれば 28 ppm となる）まで添加しても生存期間を延長することなく，発育も示さないのに対し，大腸菌群は 2.5 ppm（有機物として 0.07 ppm）の如き微小

濃度ですら生存期間の延長効果が現われ，100 ppm（有機物として 2.8 ppm）以上になると顕著な発育が起るようになる。実際問題として水が小濃度の有機栄養物質を含有するような状態は種々の場合にあり得ることであるから，外界に排出された大腸菌群が腸球菌の発育し得ぬような水質条件の下で旺盛に発育することは当然考えられる。このような事実は自然界に分布する大腸菌群菌数と汚染との関係が稀薄であると考える有力な根拠となる。また一方，まぐろの刺身を 30°C，20°C，5°C に放置した場合，付着している大腸菌群菌数の増加は腸球菌よりもかなり速いことが示された。実際に鮮魚店等で夏季の気温である 30°C 前後に数時間放置されたり，あるいは 5°C 前後の冷蔵庫に 1 夜放置されるような場合には，その間に大腸菌群の方が速かに発育し，その結果腸球菌に対する大腸菌群菌数の比率が放置前よりも遙かに大となる可能性がある。魚介肉を冷凍し 370 日間冷蔵した場合，その間腸球菌々数の減少は全くみとめられなかつたのに対し，大腸菌群は徐々に減少した。また豆類の場合には凍結時に大腸菌群が顕著に死滅している。一般に冷凍食品において腸球菌々数が大腸菌群に比較し大であるのは，このように最初の凍結時ならびにその後の冷蔵期間に大腸菌群の方が顕著に死滅することに起因すると考えられる。LARKIN 等[13,13]もこの点については類似の観察結果を得ているが，冷凍冷蔵された食品において，凍結前の汚染の状態を長期間にわたりそのまま示し得る点で腸球菌は大腸菌群よりも優れた指標細菌といえよう。

摘　　　要

井戸水，海水における腸球菌と大腸菌群との生存期間および発育の状態を種々の条件で比較観察した。加熱滅菌しない生の海水では有機栄養物質の添加の如何にかかわらず両菌群とも速かに死滅することを認めた。生の井戸水においても両菌群とも比較的短期間に死滅したが，これに極く微量の有機栄養物質が添加された場合に大腸菌群の生存期間は延長し，有機物濃度 2.8 ppm 以上では顕著に発育したが，一方腸球菌では遙かに高い有機物濃度（28 ppm）においても生存期間の延長すらみられず発育も起らなかつた。また汚染したまぐろの刺身を 30°C，20°C，5°C に放置した場合に大腸菌群は腸球菌に比較し速かに増殖することを認めた。食品を凍結し，冷凍貯蔵した場合に腸球菌々数の減少はほとんどみとめられなかつたが，大腸菌群菌数は相当減少した。

終りに臨み，懇篤なる指導と校閲を賜わつた東京水産大学関根隆教授に謹んで感謝の意を表する。また実験の一部を担当された佐伯和昭，芦沢守夫，内田　大，関根常晴の諸氏ならびに冷凍冷蔵実験において便宜を与えられた日本冷蔵株式会社にあわせて感謝する。

文　　　献

1) 堀江　進： 本誌，**26**, 183 (1960).
2) BEARD, P. J. and MEADOWCROFT, N. F.: *Am. J. Pub. Health*, **25**, 1023 (1935).
3) VACCARO, R. F., BRIGGS, M. P., CAREY, C. L. and KETCHUM, B. H.: *Am. J. Pub. Health*, **40**, 1257 (1950).
4) BUCK, T. C., KEEFER, C. E., and HATCH, H.: *Sew. and Indust. Wastes*, **24**, 777 (1952).
5) FRASER, R. S. and ARGALL, C. I.: *Sew. and Indust. Wastes*, **26**, 1141 (1954).
6) NUSBAUM, I. and GARVER, R. M.: *Sew. and Indust. Wastes*, **27**, 1383 (1955).
7) SKINNER, C. E. and MURRAY, T. J.: *J. Inf. Dis.*, **38**, 37 (1926).
8) SAVAGE, W. G. and WOOD, D. R.: *J. Hyg.*, **16**, 227 (1917).
9) ALLEN, L. A., PASLEY, S. M., and PIERCE, M. A. F.: *J. Gen. Microbiol.*, **7**, 36 (1952).
10) MALLMANN, W. L. and LITSKY, W.: *Am. J. Pub. Health*, **41**, 38 (1951).
11) ZO BELL, C. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **34**, 113 (1936).
12) LARKIN, E. P., LITSKY, W., and FULLER, J. E.: *Appl. Microbiol.*, **3**, 102 (1955).
13) LARKIN, E. P., LITSKY, W., and FULLER, J. E.: *Appl. Microbiol.*, **3**, 104 (1955).

飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—X.

腸球菌鑑別用の一新平板培地

堀 江 進・佐 伯 和 昭

(1960 年 4 月 6 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES OF FOOD AND DRINK—X.

A NEW AGAR MEDIUM FOR THE SELECTION OF ENTEROCOCCI

Susumu HORIE and Kazuaki SAHEKI*

A new selective agar medium, esculin lactose azide agar (ELA agar), available for the isolation of enterococci has been deviced by modifying the COLOBERT's medium[2].

This medium is prepared as follows: 10 g. peptone, 5 g. yeast extract, 5 g. NaCl, 5 g. glycine, 2.5 g. $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, 2.25 g. sodium azide, 1 g. esculin, 10 g. lactose, 2 g. ferric ammonium citrate and 16 g. agar are dissolved in 1,000 ml. of distilled water, and the pH of the mixture is adjusted to 9.0.

ELA agar is suitable for selective cultivation of enterococci, and the enterococcal colonies developed on the agar plate can be distinguished by the formation of black halos. This medium may successfully be used for a simple and rapid examination of enterococci in foodstuffs and beverages of various kinds.

緒　　言

大腸菌群鑑別用の平板培地としては，EMB 培地あるいは遠藤培地のごとき著名なものがすでに使用されているが，一方腸球菌鑑別用の平板培地に関する研究は未だに甚だ少ない。若し腸球菌選択力に富み，かつ本菌の特徴ある集落を形成させ得るような平板培地が見出されれば，本菌に関する研究上，並びに実際的衛生検査の面において甚だ有効であると考えられる。那須[1] はすでに腸球菌分離用の平板培地として NaN_3 を 0.02% 添加した B. T. B.-Azide Dextrose Agar を報告しているが，最近に至り COLOBERT 等[2] は培地を強いアルカリ性 (pH 9) とし，NaN_3 の濃度を非常に高くし (0.225%)，更にエスクリン，クエン酸鉄アンモニウム等を使用した特長のある寒天培地を考按している。著者等は本培地で腸球菌が速かに，かつ選択的に発育し得る点に着眼したが，COLOBERT 等の培地は調製法が相当繁雑な点で実用には適当でない。本研究では，彼等の培地の要素をとり入れ，種々検討した結果，腸球菌選択性に富む一新平板培地を考按し得たので報告する。

実験材料および方法

1. 培地の組成に用いた材料

ポリペプトン (大五栄養化学)，酵母エキス (Difco)，エスクリン (東京化成，特級)，グリシン (日本理化学，特級)，NaN_3 (Merck)，乳糖 (和光純薬，1 級) の他数種の塩類を使用した。

2. 供 試 菌 株

当教室の保存菌株を使用した。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

3. pH 測定法

ガラス電極 pH メーターを使用した。

実験結果

COLOBERT 等の培地の組成を改変することにより，腸球菌鑑別用の平板培地として esculin lactose azide agar (ELA agar) を考按した。

ELA agar の調製法

ポリペプトン 10g，酵母エキス 5g，NaCl 5g，グリシン 5g，$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 2.5g に蒸溜水 400ml を加え，加熱溶解し，NaOH で pH 9.2 としたものを第1液とする。別に NaN_3 2.25g，エスクリン 1g. 乳糖 10g，クエン酸鉄アンモニウム 2g を，加温した蒸溜水 100ml に溶解し，NaOH で pH 9.2 としたものを第2液とする。更に別に寒天 16g を蒸溜水 500ml に加熱溶解しておく。第1液と第2液とを混合した後 pH 9.2 であることを確かめ，この混合液を更に上記寒天液と混合する。これを分注した後，115°C, 20 分間滅菌する。滅菌後の pH はほぼ 9.0 となる。本培地には黒褐色の沈澱物があるので使用に際しては沈澱物が混入せぬよう上澄液のみをシャーレに流しこまねばならぬ。

ELA agar の腸球菌選択性について

ELA agar plate において腸球菌がどのような集落を生成するか，一方他種細菌の発育はどの程度阻止されるか等の点を検討するため次の実験を行なつた。

多数の腸球菌々株および他のグラム陽性，陰性菌々株の dextrose broth に 37°C で 24 時間培養したものを，ELA agar plate に画線し，37°C で 24 時間培養後の集落形成の状態を観察した。比較研究のため ELA agar の組成から乳糖を除いた EA agar plate にも同時に培養し観察した。実験の結果を Table 1 に示したが，－，±，＋ の記号は集落の発育の程度並びに集落のまわりに生ずる "halo" の強さを示した。

Table 1 に示したごとく，腸球菌々株は ELA agar において，何れも 24 時間で良好な発育を示し，やや暗い色調の培地に鮮明にうき出た直径 1mm 前後の白色あるいは灰白色の集落を形成し，集落のまわりに特徴ある黒色の "halo" を生じた。他の菌種は一般に発育を阻止あるいは著しく阻害されたが，大腸菌群の1株（NaN_3 抵抗株として既知のもの）が腸球菌と同様の集落並びに "halo" を生成した。EA agar plate における各菌株の発育並びに "halo" の形成は ELA agar の場合とほぼ同様であつて，乳糖を除いたために腸球菌集落の小さくなるような傾向はみとめられなかつたが，ELA agar の場合に比

Table 1. Comparison of growth and halo-formation on ELA agar* plate between enterococci and other organisms.

Organism		No. of strain	Growth	Halo
Enterococcus group	Type Ⅰ	11	＋	＋
	Type Ⅱ	10	＋	＋
	Type Ⅲ	10	＋	＋
Coliform group	Esch. Ⅰ	1	－	－
	〃	1	－	－
	Int. Ⅱ	1	＋	＋
	Aerob. Ⅰ	1	－	－
Bacillus subtilis		4	－	－
Micrococcus citreus		2	－	－
M. varians		1	－	－
M. piog. var. *aureus*		1	－	－
M. piog. var. *albus*		1	－	－
Proteus vulgaris		2	－	－
Prot. morganii		2	－	－
Salmonella typhimurium		1	－	－
Salm. enteritidis		1	±	－
Salm. pullorum		1	－	－
Achromobacter viscosum		1	－	－
Flavobacterium deciduosum		1	±	－
Fl. fuscum		1	－	－
Pseudomonas aeruginosa		2	－	－
Ps. schuylkilliensis		1	－	－
Ps. ovalis		1	－	－

* Esculin lactose azide agar.

べて集落の色調が不鮮明であつた。本実験の結果，腸球菌は ELA agar で特異的に良く発育し特徴ある集落を形成し，かつ本培地がすぐれた腸球菌選択性を有することを認めた。

ELA agar plate を用いた鮮魚の簡易腸球菌検査法について

上述のごとく，ELA agar は腸球菌選択性に富むので，飲食品を直接に本培地に塗抹あるいは捺印することにより簡易な腸球菌検査ができるのではないかと考え，その1例として鮮魚を検査材料として検討を試みた。

関根[3] は魚体表面の大腸菌群の簡易検査法として EMB 培地に捺印する方法を記載しているので，この方式に準じ，ここでは ELA agar plate に捺印する方法を採用した。

あじ(体長約 20cm) およびさば(体長約 35cm) を3尾宛準備し，各1尾宛をそれぞれ異なつた下水で汚染したものを検査材料とした。関根の記載している捺印法採取器で魚体表面を軽く圧し，1回の採取について2枚の ELA agar plate を準備し，この平板上に次々と場所をかえて8ケ所（1枚のシャーレに4ケ所）捺印し，寒天寒地に附着する菌数が漸減するようにした。各1尾の魚体の2ケ所から上記のごとく採取，捺印を行なつた。これらのシャーレを 37°C で24時間培養し，発生した集落について検討を加えた。生成した集落を観察すると，比較的大型で黒色の "halo" の強く大きく現われる典型的腸球菌集落とみられるものと，一方比較的小型で "halo" の生成も弱く，腸球菌集落としては疑わしいものとが存在した。各1ケ所分を捺印した2枚のシャーレに発生した典型的集落と非典型的集落との数を Table 2 に示す。

Table 2. Number of typical and atypical colonies developed on ELA agar plate by the direct stamping method according to SEKINE.

Sample		Test No. for each sample	No. of typical colonies	No. of atypical colonies
Horse-mackerel	1	1 2	9 9	26 10
〃	2	1 2	14 7	13 0
〃	3	1 2	0 1	1 4
Mackerel	1	1 2	26 20	1 5
〃	2	1 2	11 2	0 8
〃	3	1 2	6 4	5 3

Table 2 に示される典型的集落および非典型的集落が果して腸球菌なりや否やを確認するため，これらの集落の中より任意に釣菌し，yeast dextrose agar slant (1% ポリペプトン，0.3% 酵母エキス，0.5% ブドウ糖，0.5% NaCl，1.3% 寒天) に移植し，37°C で 24 時間培養後グラム染色検査を行ない，更に 6.5% NaCl，pH 9.6，45°C の条件における発育等の腸球菌の完全試験を行なつた。その結果を Table 3 に示す。

Table 3. Result of complete test of typical or atypical colonies developed on ELA agar plate.

	Total number of colonies tested	Number of colonies confirmed as enterococci	Number of colonies confirmed as other organism
Typical colonies	34	31(91.2%)	3 (8.8%)
Atypical colonies	16	6(37.5%)	10(62.5%)

Table 3 に示したごとく，典型的集落においては 90% 以上が腸球菌とみられたが，非典型的集落の過半数は腸球菌に属さぬ菌であつた。以上の結果から ELA agar plate で良好な発育を示し，やや大型の灰白色集落を形成し，かつ明瞭な黒色 "halo" を生ずる場合には，大体腸球菌と推定することが可能である。また集落がやや小さく "halo" の生成の弱い場合においても一応腸球菌であることを疑う必要がある。

考　　察

ELA agar は一般細菌に対する制菌性に富む半面また腸球菌には甚だ好適な培地である。腸球菌は一般細菌に比べ発育の至適 pH がかなり高いので，従来知られている pH 7 前後の培地に比べると，ELA agar

では pH を 9 に高めたことにより培地の選択性が向上していると同時に腸球菌の発育には好都合となつている。NaN_3 の濃度 0.225% は従来の腸球菌選択培地に比較し 10 倍程度大であるが，pH 9 の本培地ではこのような高濃度の NaN_3 も腸球菌の発育を阻害しないようである。また ELA agar plate における腸球菌集落が周囲に黒色 "halo" を生ずることは本菌の鑑別上甚だ有利である。しかし本研究で経験したごとく腸球菌以外の菌種でも時には腸球菌と全く同様の集落並びに "halo" を生成する場合があり，また腸球菌々株の中にも集落がやや小型で "halo" の生成の比較的弱い場合のあることを考慮しておく必要がある。一般に ELA agar において腸球菌は迅速に発育するので，集落並びに "halo" の観察には 24 時間の培養が適当である。48 時間培養においては "halo" の黒変域が拡がり近隣のものと互いに重なり観察が困難になる。飲食品等における腸球菌を迅速に検査するには，検体を直接 ELA agar plate に塗抹あるいは捺印し，37°C で 24 時間培養後の集落を観察することにより，検体における腸球菌付着の程度を推定することが可能である。更に本菌を分離し完全試験まで行なうとしても，所要日数は 2〜3 日で充分である。

摘　　要

腸球菌選択性に富む一新平板培地，esculin lactose azide agar plate 培地 (ELA agar plate) を考按した。本培地は pH が高く (pH 9)，高濃度 (0.225%) の NaN_3 を使用し，更にエスクリン，クエン酸鉄アンモニウムを含有する点等を特長とする。ELA agar plate で腸球菌は特異的によく発育し，24 時間以内に顕著な黒色 "halo" を有する白色あるいは灰白色集落を形成する。本培地に飲食品を直接塗抹あるいは捺印することにより迅速簡易な腸球菌検査が可能と考えられる。

終りに臨み，懇篤なる指導と校閲を賜わつた東京水産大学関根隆教授に謹んで感謝の意を表する。また本研究に終始協力された牛山宗弘氏に深く感謝する。

文　　献

1) 那須昭夫：日本衛生学雑誌，8，173 (1954).
2) COLOBERT, L. and MORÉLIS, P.: *Ann. Inst. Pasteur*, **94**, 120 (1958).
3) 関根　隆：水産食品衛生，紀元社，東京 (1959)，p. 55.

速 報

紅藻ユナより分離せる一新アミノ酸 (Chondrine) について

栗山光央・高木光造・村田喜一

(1960 年 5 月 2 日受理)

ON A NEW AMINO ACID (CHONDRINE) ISOLATED FROM RED ALGA *CHONDRIA CRASSICAULIS*.

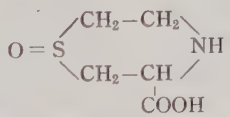
Mitsuo KURIYAMA, Mitsuzo TAKAGI and Kiichi MURATA*

昨年 (1959) 春の学会で著者等はユナ (*Chondria crassicaulis*) より不明のアミノ酸を分離し，その二，三の性質について述べておいたが，その構造を *l*-1-Sulfoxythiazine-3-Carboxylic acid と決定しうるに至つたので報告する。

このアミノ酸の特長はペーパークロマトグラフィーに展開後ニンヒドリンと加熱することにより最初コバルト色に発色し，加熱を続けることにより深青色を呈し遂には褐色に変わる。$C_5H_9O_3NS$ なる元素組成を有し，255−257° (封管) で分解する。旋光度は比較的大きく，$(\alpha)_D^{16} = +20.91$ (C = 2, H_2O). $(\alpha)_D^{12} = +30.15°$ (C = 2, 6N-HCl) を与える。銅塩は 171° (封管) で分解する。N/50-NaOH で滴定の結果，カルボキシル基一箇に相当するアルカリを消費し，キンヒドロン溶液により二級アミン特有の赤色を呈し，Plattner の N-CH_3 反応陽性を示した。一方ジアゾ反応，塩化第二鉄反応いずれも陰性で，カルボキシル基以外の酸素は硫黄に結合していると考えられたが，重亜硫酸塩による還元に対しては安定であつた。還元物〔$C_5H_9O_2NS$, m.p. 262°−263° (封管), $(\alpha)_D^{13} = -52.94$ (C = 2, H_2O). $(\alpha)_D^{13} = -26.38$ (C = 2, 6N-HCl)〕は沃化水素酸と加熱することにより得られ，この還元物を過酸化水素水で処理することにより原物質にもどりうるから Sulfoxide の存在が明確となつた。このような S = O の強力な結合状態は，このアミノ酸およびその還元物質の旋光度が非常に大きい値を与えることからも当然環状構造が推定された。次にこのアミノ酸を Raney Ni により脱硫的に還元を行えば $C_5H_{11}O_2N$ なる物質と少量の Alanine が得られた。前者は融点 282−285° (封管), $(\alpha)_D^{15} = +10.41$ (C = 1, H_2O) を与え，更に Plattner 反応が陽性である所から N-Ethylalanine の構造が推定され，Strecker 法により *dl*-N-Ethylalanine を合成し，融点および諸種のペーパークロマトグラフィーによる Rf 値が完全に一致することを認めた。

更に，このアミノ酸を塩酸中において過酸化水素水にて酸化し，ペーパークロマトグラフィーにより，不明の二箇の Spot の他，Taurine と少量の Alanine を検出した。

このように脱硫的還元により *l*-N-Ethylalanine を与え，過酸化水素水による酸化により，一部 Taurine を検出した故に *l*-1-Sulfoxythiazine-3-Carboxylic acid と決定され，この海藻の名 (*Chondria crassicaulis*) にちなみ Chondrine



と命名することにした。詳細は海藻に関する化学的研究，第 14 報として北海道大学水産学部研究彙報に投稿の予定である。なお，このアミノ酸の構造決定に際し，元素分析に御協力下さつた武田薬品株式会社研究室に深謝の意を表する次第である。

* 北海道大学水産学部水産食品化学教室 (Fac. Fish. Hokkaido Univ., Hakodate, Japan). (印刷費負担)
** (印刷費負担)

抄　　録

魚類視覚の電気生理学的研究 V.R. PROTASOB: *Trud. Soveshcha. Fiziol. Ryv.*, 110～114 stp. (1958). 視神経を露出して白金電極と連結した後，電磁気から魚を守るために特別の遮蔽装置のある室に安置した。色的刺激板として実験者の希望通りの波長および光量を調節できる万能単色板 YM-2 が用いられ神経への刺激作用は電極を通じてオッシログラフに記録された。魚類の可視スペクトルの巾は魚種によつて異なる。すなわち *Trigon pastinaca* は 420～620; *Acipenser stellatus* は 420～720; *Mugil auratus* は 430～700; *Scorpaena porcus* は 400～700; *Silurus glanis* は 500～700; *Cyprinus carpio* は 480～700; *Squalus acantias* は 400～620 mμ である。つぎに，色のちがいに対する感覚能力を調べた結果では（色をいろいろに変えて視神経の電気的刺激が起らなければ色的感覚はないとし，また起ればあるとする）*Trigon pastinaca* は色の見分けが全然ない; *Mugil auratus* は空色，緑，赤，オレンジ色を見分けるが，青とオレンジ，濃赤と赤色の区別が不可能; *Rhombus maeoticus* は赤，空色，緑，黄，オレンジ赤を色別できるが，菫と青色の区別が不可能; *Scorpaena porcus* は赤，黄，オレンジ，緑，空色青の色別は可能であるが，菫と青，濃赤と赤の区別ができない。つぎにコントラスト光およびフラット光に対する感受性試験では，*Pleuronectes flesus* および *Rhombus maeoticus* は二物体の明るさで 1～2％の差を区別する能力をもつており高いコントラストのある感受性であるが，コイおよび *Silurus glanis* は 10～20％の範囲で，コントラストの感受性は低い。（佐野）

マス血液の反復採血法 R. H. SCHIFFMAN: *Progr. Fish. Cult.*, **21** (4), 151～153 (1959). 麻酔したマスを腹面を上にして固定し，口腔を大きく開いた後背大動脈に注射針を挿入して採血する方法を述べている。魚体重の大体4～6/1000 の量を採血した場合には hemorrhagic shock として一時的な心悸亢進，呼吸数の増加，鰓蓋のけいれん，不活発などの反応を示すが，死ぬことはない。熟練すると 15～30 秒で必要量を得ることができる。従来，魚の採血はその都度魚を犠牲にして行われたが本法によつて必要量を採血した後，飼育しておけば反復して採血ができる。また血管から直接採血するので，得られた血液は細菌その他によつて汚染されにくいなどの利点がある。（佐野）

2 台の水中カメラによる洄游中の鮭の体長測定 W.F. THOMPSON and D.W. CLANCY: *Photogrammetric Engineering* (1959). 鮭の習性や個体数に関して正確な資料を得ることは，この漁業の管理に重要なことである。Alaska の Word 河で，水産試験場が河を溯る鮭の尾数を数えるために用いた最初の方法は，河の両岸に 30 feet の塔を建て，魚群を見下し直接に数えることであつたが，多くの困難があつた。つぎに塔の尖端に写真機をとりつけ記録することも行なわれ効果を挙げたが，この方法では体長の測定や魚種の判別はできなかつた。そこで，2台の水中カメラで魚の撮影が行なわれたが，この方法によると体長のみならず種類の判別，鱗の大きさ，体巾，性別という型態的差異ないしは刺網による痕跡も見極められた。カメラは三角形の枠の底辺の両端に2台とりつけられ，ボートから魚の游泳水深まで吊り下げられ，上流側の一端は錨で止められ，流れに対し自由になるようにした。フラッシュはカメラの後につけられ，閃光電球が用いられた。魚体長の測定は 1) あらかじめカメラの視野範囲の縮尺図が作られ，2)その図の視野範囲に 1/4 吋間隔のます目が引かれ，同様の枠が両方のカメラに収められる。したがつてネガにもます目が写される。3)縮尺図と写真のます目の位置が一致するようネガが置かれ，幾何学的作図により実際の魚の体長が求められる。この際，写真機，フイルム，電球の性能が問題となる他，2台のカメラの角度，距離，レンズの焦点距離も考慮しなければならないが，模型によるテストでは 18 吋の魚で誤差は 0.25 吋より小さかつた。現在は魚を認めて手動でスイッチを押すが，やがて自動的に操作されるであろう。

（井上）

太陽による魚の方向決定と回帰 A.D. HASLER, R.M. HORRALL W.J. WISBY and W. BRAEMER: *Limnology aud Oceanography*, **3** (4) (1958). 動物の回帰性を Griffin はつぎの3つの型に分けている。1)熟知した区域内の地形的特色を認識することにより鼠を発見する能力 2) 未知の区域内において一定の方向を定める能力 3) 六分儀とも呼ぶべき機構によつて未知の場所から巣を発見する能力（魚についてはこの器官の存在はみつからない）Mendota 湖（面積 39.4 km, 周囲 32.4 km）で White Bass の標識放流が行なわれた。湖の中央から放流された魚は岸近くの2カ所の主産卵場で再捕されたが，再捕率から計算された回帰率はそれぞれ 87.2%, 96.1％であり，また，産卵場付近から放流された魚の回帰率は 77.3％，80％であつた。この回帰性を直接追跡するため，性熟した魚の背鰭の後に 2～5 m のナイロン糸をとりつけ，方向感覚をとり去り，湖の中央から放ち，1時間後の位置を記録した。それによると大部分の魚は北の方向に向いていた。なお，産卵場の近くから放たれた魚は岸に沿い，地形的特色により産卵場に戻るようであつた。曇天の日，不透明のプラスティックの眼球をつけられた魚の方向の分布は全くまちまちであつた。この実験は岸近くの移動を除き Griffin 説の 2) の型を説明している

ようである。さらに，水槽の中で餌を与え，または特殊な装置で一方向のみに移動するように訓練され回帰性を帯びた魚 (Pumpkinseed, Blugill) について，太陽の位置と魚の動きとの関係を調べたが，魚は太陽の助けにより1日のどの時刻でも方位を決定する能力のあることが種々の実験の結果示された。（井上）

魚の游泳速度の観察 J. H. S. BIAXTEA, W. DICKSON: *J. du Council*, **24** (3) (1959). I. 方法；流れのある管のなかに魚を入れ，流れを溯る魚が堪え得る流速の限界をもつて，魚の最大游泳速度とみなした。管はガラス製直径 2.5 cm，長さ 60 cm，プラスチック製直径 5.0 cm, 75 cm 長さ 120 cm，鉄製直径 30 cm，長さ 150 cm の計4個を使用した。最初の三つはモーターで火を送り，最大スピード 150，430，185 cm/sec であつた。鉄製の管はモーター船の舷側につけられ，210 cm/sec の最大スピードが出た。魚の速度は流れの速さから計算されるが，管の大きさや魚の体周についても補正しなければならない。データとしては，体長，体重，水温，游泳速度泳いだ総距離，魚が疲労するまでの時間が記録された。II. 結果；(1) 平均最大スピード：タラの類，cod (体長 12～56 cm) 75～120 cm/sec, Haddock (25～42 cm) 75～180 cm/sec, Whiting (14～20 cm) 75～160 cm/sec, Saithe (9～21 cm) 60～200 cm/sec その他の類。Sprat (1～25 cm) 3～170 cm/sec, Mackerel (33～38 cm) 189～300 cm/sec, Brown trowt (12～24cm) 84～234cm/sec (2) 水温と平均最大スピードとの間には明らかな相関はなかつた。(3) 魚が疲労するまでの游泳距離は最大スピード近くで泳いだ場合，タラ類では体長の 130～300 倍，Sprat では 1100 倍，Brown trout では 500～1000 倍，Mackerel では 300 倍となつた。（井上）

食品中の Zn^{65} G. K. MURTHY, A. S. GOLDIN and J.E. CAMPBELL: *Science*, **130** (3384), 1255～1256 (1959). 米国オハイオ州シンシナテー地方の各種市販食品中に含まれる放射性亜鉛 Zn^{65} について 1958 年3月より 1959 年1月にわたりサンプリングしたものの放射能分析を行なつた結果，根菜，穀類，卵，牛乳，果物等はいずれも 10 $\mu\mu$c/kg 以下，蛤，畜肉類，葉菜等で 50 $\mu\mu$c/kg 以下であつたが，Chesapeake 湾で獲れた牡蠣には 120 $\mu\mu$c/kg 以上も含まれていた。これら Zn^{65} の濃度はその MPC が 6×10^6 $\mu\mu$c/l (水)，kg(食品) であるので放射能障害の心配はないが，なお牡蠣についてさらにガンマースペクトルを調べてみると Zn^{65} のほかに K^{40}, $Zr^{95}+Nb^{95}$, Ru^{106} が検出された。Zn^{65} の放射能汚染の原因ははつきり分らないが，とにかく高度のフォールアウトによつて広範囲にわたり拡散されているものと思われる。（平野(敏)）

コラーゲンにおよぼす γ 線照射の影響 J. CASSEL: *J. Am. Leather Chemists Assoc.*, **54** (8), 432～451 (1959). 犢 (steerhide) の精製皮革粉末とカンガルーの尻尾の腱 (tendon) に 2000 キュリーの Co 60 を線源として γ 線照射を行い，つぎの試験によつて，コラーゲンにおよぼす影響を調べた。照射は空気共存下および真空中で，5～220 megarad の吸収線量で行なわれた。まづ照射コラーゲン粉末は外観的に褐変化し，強線量のものは照射後元の状態に戻らない。また窒素含量は線量増加とともに減少するが，赤外線スペクトルは照射前後においても余り差がなかつた。コラーゲンに特徴的な収縮温度の変化は tendon について測定した結果吸収線量増加とともに減少する。また空気共存下および真空中で，あるいは水分含量 0～40％内ではそれら相互間の差異は認められず，free radical が tendon の収縮温度を低下させる原因とは考えられない。照射による "after effect" をみるため，照射後空気共存下および真空中で保存中，経日的に収縮温度について調べたが有意差は認められなかつた。ただ照射コラーゲンは対照に較べて細菌学的な影響を蒙りやすい状態になつた。steerhide 粉末について照射前後における構成アミノ酸の分析を行なつた。20 megarad でアミノ酸の組成量損失がみられ，吸収線量の増加とともに主要成分，メチオニン，フェニールアラニン，スレオニンの損失が大きく，一方アラニン，グリシン，ハイドロオキシプロリン，プロリン，アルギニンの損失は少かつた。またそれらG値はアミノ酸組成量と一致し，吸収線量とともに増加する。一方 steerhide 照射コラーゲンの水可溶性区分についてはつぎの結果を得た。可溶性全窒素は吸収線量とともに増加するが，粘度の変化，三塩化醋酸による ppt 量およびアミノ態窒素量には余り差がなかつた。これより，照射によるポリペプチド結合の開裂は非加水分解型であつて "at random" に行なわれるものと思われる。照射コラーゲンは4°C 以下でゲル化せず，また比旋光度は $[\alpha]_D=-109°$ を示し，変性蛋白などと共通している。紫外部吸収スペクトルをゼラチンを対照として測定し，吸収線量増大とともに吸収増加がみられた。さらに照射コラーゲンのアルカリ溶液の吸収スペクトルをみるとチロシンの 292 mμ の吸収極大が照射により消失している。これらは照射による蛋白粒子の "agglomeration" の結果として紫外部吸収物質の形成によるものと思われる。（平野(敏)）

家庭用冷蔵庫における食品保存の改良法 E. S. STODDARD and C. E. HUMMEL: *Refri. Eng.*, **65** (6), 33～38, 69～70 (1957). 1957 年6月フロリダ州マイアミで開催された第 53 回 ASRE 年会に報告したもので，従来の家庭用冷蔵庫に改良を加えて食品の保存期間を延長せしめるのにつぎの三つの方法をあげている。1) γ 線照射保存法，2) 減圧保存法，3) 低温保存法。1) の方法は低線量の連続照射による γ 線作用と低温との組合せで，gamma pan と称する特殊な容器をつくり，容器そのものが

冷蔵保存中も 15 mr/hr の照射率で絶えずγ線照射を行なうようになつている。したがつて 2 週間の保存期間ではわづか 5 rep の吸収線量が得られるに過ぎない。レタス，セロリー，アスパラガス，イチゴおよびトマトを用いて試験した結果，単なる冷蔵法より平均 50%長く保存期間を延長することができた。またレタスおよび肉類から分離された細菌やカビを使つて細菌学的に調べた結果 gamma pan 中の発育生長は抑制された。2)の方法は容器内減圧と低温との組合せで貯蔵容器を常圧より水銀圧 4 in. 以下に減圧できるような密閉式装置を施し，これにより食品の表面からの水分蒸発を調節し，重量の損失が冷蔵法に比してかなり減少された。また冷蔵容器内の減圧の結果，酸素の欠乏，炭酸ガスの増加により細菌の発育は不良となり，食品の変質も遅れて保存期間もレタス，セロリー，グリンピース，トマトおよびイチゴで試験した結果 42°F の保存で通常より 55%長く延長された。3) の方法は在来法による冷蔵温度をさらに食品の凍結温度近くまで下げることにより保存期間の延長をはかるもので，ハナハボタン，トウモロコシ，レタス，セロリーおよび豌豆を用いて試験した結果，40°F 保存では 45°F の場合よりも 37%以上，35°F では 45°F よりも 91%長く延長できた。また肉類ではボログナ，ハム，ベーコンおよびウィンナー類を用いて真空包装したものと簡単な包装をしたものについて 36°F で保存した場合は 45°F の 2 倍，30°F では 45°F の 3 倍も延長できた。なおこれら試験による保存期間とは食品の外観検査等により，その品質レベルを，元の状態(5点)，選別なしに食用可能(4点)，選別により食用可能(3点)，僅かに食用可能（2点）および腐敗（1点）の5等級に区分し，その評価点法により4点以上の品質レベルまで保存された期間である。(平野(敏))

海水中の放射能分析 V.J. SODD, A.S. GOLDIN and R.J. VELTEN: *Anal.Chem.*, **32** (1), 25～26 (1960). 海水中に微量含まれる放射性物質はつぎの沈澱法による系統的放射能分析によつて総括的に分離測定される。海水 1 l に Ln, Fe(Ⅲ), Co(Ⅱ), Zn, Ni などおよび Cs（おのおの 10 mg）ならびに Sr(44 mg) の担体を加え，酸処理，煮沸後 NH_4OH あるいは NaOH によつて塩基性にし，4% thioacetamide か H_2S ガスで塩基性硫化物の沈澱をつくる。これを沪別して，HCl-HNO_3 混液で処理し，γ 線シンチレーションスペクトロメーターで放射能分析を行なつて，Cr^{51}, Zn^{65}, Ru^{106}, Zr^{95}, Ce^{144}, Nd^{147}, Co^{60} などを 93%以上の収率で得た。一方硫化物として沈澱し得ない Sr, Ba, Ra を含むアルカリ土類は上記硫化物母液から担体として加えた Sr とともに 3N Na_2CO_3 で炭酸塩として沈澱せしめ，さらにこれを HNO_3 と Na_2CO_3 で繰り返し分別精製して β 線用カウンターで測定され，放射能の 90%が Sr および Ba-Ra であつた。またアルカリ金属は上記炭酸塩の母液を HCl で処理し，0.125 M の珪素タングステン酸を加えて担体 Cs とともに沈澱せしめ，一般の定性分析の方式による精製後 γ 線用シンチレーターか β 線用カウンターによつて，放射能の 95%が Cs であつた。

(平野(敏))

ヤリイカの単一色素細胞の酸化還元吸収スペクトル M. BAYER and J. MEYER-ARENDT: *Science*, **129** (3349), 644 (1959). 頭足類のうち，ヤリイカ (*Loligo forbesi*) の真皮の単一色素細胞について微量分光光度学的に調べた。組織を 4%ホルマリンで固定し，0.05 M $Na_2S_2O_5$ で処理したのち酸化還元による色素の特異的変化を 400～700 mμ にわたる吸収スペクトルで示した。その結果還元の場合は 525～540mμ に吸収極大が認められたが 7% H_2O_2 による酸化によつて極大は消失した。この変化は ommochrome と一致しているがそれらにはメラニンあるいはメラニン様物質の存在は含まれていない。(平野(敏))

Neutral red による螢光を使用する Clostridium 属の簡易鑑別法 L. KAUFMAN and R.H. WEAVER: *J. Bact.*, **79** (2), 292～294 (1960). liver veal agar (Difco) に 0.004%の neutral red を加えた培地を使用し，これをまずペトリ皿に注入して凝固させた後，試料を接種して同培地を上に注ぎ，さらにこの上を殺菌した培地で被覆する。嫌気培養を行なつた後，18～24 時間で普通光と紫外光で検査すると，紫外光では 18～24 時間で *Clostridium* の周囲は黄金色螢光を発するが，普通光では 24～48 時間で黄色螢光を発する。この螢光は *Clostridium* 属に特有であつて，他の多数の通嫌気性菌によつてはこのような螢光は生産されない。唯一の例外として無芽胞偏性嫌気性菌である *Fusobacterium polymorphum* と *Bacteroides perfoetens* の1株が同様な螢光物質を生産する。この螢光物質は neutral red の単なる還元により生産されたものではないことを，亜鉛末を還元性物質として用いた実験により確めた。(横関)

α-Picolinic acid による芽胞形成の阻害 K.G. GOLLAKOTA and H.O. HALVORSON: *J. Bact.*, **79** (1), 1～8 (1960). dipicolinic acid は細菌芽胞の成分であつて，栄養菌体には存在せず，芽胞の休眠と耐性に関係している重要な物質であると考えられている。dipicolinic acid は発芽，生長，芽胞形成に特に影響しないが，同属物質の α-Picolinic acid は生長と発芽を阻害しないけれど，芽胞形成を阻害する。この阻害は芽胞形成に必要な金属とキレートするために起るもののようであつて，nicotinic acid や dipicolinic acid を加えても阻害は回復しないから nicotinic acid と競合するためではない。この阻害は Zn, Co, Ni を過剰に加えることにより回復するが，これ等金属単独では芽胞の発芽を阻害する。したがつてこれを一緒にすると互の阻害を打消

すわけである。PO_4 も阻害を回復する能力があり，これは α-picolinic acid と必須金属を奪い合うからであろう。酵母エキスも α-picolinic acid の阻害を回復するが，同量の灰分では回復しない。したがつてこの回復は金属の補給のためではなく，α-picolinic acid によつて阻害された代謝を中間物質の給与により回復するからであろう。結局α-picolinic acid は芽胞形成に関与している酵素系の合成に必要なある金属とキレートすることにより，芽胞の形成を阻害するものと思われる。(横関)

***Euglena gracilis* の Laminarase** J. FELLIG: *Science*, **131**, 832 (1960). *E. gracilis* の細胞から脱クロロフィル，アセトン粉末を調製し，これの酢酸緩衝液抽出物を酵素液として所定条件下で Laminarin に作用させ，作用後遊離した還元糖を比色定量する方法で二・三の酵素的性質を検討した。

至適 pH. 本酵素の至適 pH は 5.0 で，これは高等植物から検出されている laminarase の場合と同じ値である。

熱に対する安定性 この性質も高等植物のものと類似している。すなわち pH 7.3 で 55°C に 4 分間保持すると活性 61%のを失い，8 分で完全に不活性化する。

金属イオンの影響 Fe^{+++}, Cr^{+++}, Ni^{++}, Ba^{++} および Mg^{++} は僅かに阻害あるいは不活性化するが，Hg^{++} は 10^{-4}〜10^{-3} M の濃度を強い阻害作用を示す。

特に興味深い点は Mn^{++} が 10^{-4}〜10^{-3} の濃度で本酵素作用を強く活性化 (50〜100% 以上) することである。また同濃度の Co^{++} とか Ca^{++} は Mn^{++} の場合より弱い活性化作用を示した。

E. gracilis に含まれる貯蔵多糖類は β-1:3 glucose の重合体で，その化学構造は昆布類に多い laminarin ときわめて類似したものと考えられているが，amylase が検出されない *E. gracilis* の体内では特に本酵素が前記貯蔵多糖類の流通代謝に関与していると考えられる。(太田)

海産甲殻類による有機炭素の利用 R. LASKER: *Science*, **131**, 1098〜1100 (1960). 海産甲殻類の *Euphausia pacifica* による有機炭素の利用と排泄を C^{14} を用いる同位元素稀釈法によつて実量的に検討した。採集後絶食させた *E. pacifica* に C^{14} で標識した緑色鞭毛藻 *Dunaliella primolecta* を餌料として与え，10°C で 24 時間，暗所で培養したのち，腸管と消化腺を除き乾燥後，燃焼処理で CO_2 を生成せしめ，その CO_2 を $BaCO_3$ として放射能を測定した。その強度 (1 分間当りの counts) より試料中の炭素量を算出したが，もちろん供試生物では C^{14}/総炭素 の値がほぼ一定であることを確かめてある。

供試動物の 8 個体 (平均乾燥体重 4.0 mg，平均炭素含量 34.6%) について実験した結果，餌料として与えた C^{14} 標識藻中の炭素量 0.117〜0.313 mg である場合，供試動物が 1 日に摂取した炭素量は 0.044〜0.139 mg で，この摂取量の中 11.3〜73.6 %が体組織に転移した。以上の結果より供試動物の体内への炭素転移率にはかなり個体差のあることが諒解される。この転移率は体内における貯蔵物質の沈着状態とか動物の成長過程に関係すると思われる。

つぎに一部の試料では，呼吸商を 1 として平均酸素消費量から求めた CO_2 態炭素量の計算値と C^{14} 法で求めた異化作用によつて生成した炭素量の測定値とは良く一致した。しかし他の試料では両者の値にかなりの差が認められた。これは体内で CO_2 以外の異化炭素化合物が造られているることに起因する現象と考えられる。(太田)

冷却海水に貯蔵した魚体の重量および肉中 Na^+, K^+ の変化 R.A. MACLEOD, R.E.E. JONAS and J.R. MCBRIDE: *J. Agr. Food Chem.*, **8** (2), 132〜136 (1960). ギンサケを冷却海水中に貯蔵すると，魚体重量および肉中 Na^+ は増加し，K^+ が減少することをすでに報告しているが(J. MCBRIDE et al.: *Progr. Repts. Pacific Coast Sta.* 104, 19, 1955)，さらにベニサケ，オヒョウ，ニシン，ババカレイ，ヒラメを 30° ± 0.5°F の冷却人工海水に浸漬し，魚体重量および肉中の Na^+, K^+ の変化について同様の現象を確めた。ベニサケでは，浸漬初期 (48 時間以内) では肉中 Na^+ の増加と K^+ の減少は緩慢であるが，その後は急激に変化する。これは，当初は細胞外液と海水との平衡を示し，その後は細胞内液との平衡によるものと考えられる。人工海水浸漬 1 週間後における魚体重量の増加は，ベニサケの 2.4%からババカレイの 17.5%の範囲であり，この相違が魚体組織の脂肪の多少または滲透圧の差によるかは判断できなかつた。魚肉中の Na^+, K^+ 量と等濃度に調製した冷却人工海水中に貯蔵すると，肉中の Na^+, K^+ 量はほとんど変化しないが，一方魚体重量は矢張り増加する。これに対しては，調製海水中に 2%の polyvinylpyrrolidone を添加することによつて抑制することができる。(尾藤)

雑　　録

○5月理事会

1. **開催日**　昭和 30 年 5 月 13 日
2. **場　所**　東京水産大学小会議室
3. **出席者**　田内会長，大島編集長外 19 名
4. **会長および編集長挨拶**
5. **議　事**

a．海洋学研究連絡委員会報告

当委員会は 4 月で解散し別の名称で本年度実施の印度洋調査と併行して審議されることになり，現委員でよいかどうかが学会宛に連絡される予定

b．年会報告

年会経過報告後購入物資スライド 1 箇，図表掛等および年会経費残金を学会に寄贈した。

c．年会よりの寄贈金について

昭和 35 年度年会委員長栗田　晋氏から年会経費剰余金を学会に寄付したい旨申出があり，この支途については協議の結果，年会記念号を発行することに定め，詳細については編集長に一任することに決定した。

d．沖縄在住会員について

臨時処置として会費を日本円で納入し得る場合に限り国内会員並の取扱いをする。

e．雑誌について

1．交換されている図書を整理して分類名簿を作製し，利用に便ならしめる。

2．図書交換 1 件

Beaudette Foundation for Biological Research（カリフォルニヤ，受入書目 The Pacific Nuturalist.

正　誤　表

	誤	正
26 巻 5 号とじこみ昭和 35 年度秋季大会開催公告の裏		
注意	1．講演は 1 人，時間は 1 題 8 分以内とします。	1．講演時間は 1 題 8 分以内とします。
511 頁	Table 5　Di-t-butyl peroxide[4]	Di-t-butyl peroxide[6]
〃	下から 20 行目　する物の	する時の
513 頁	文献に下のように追加する	

6) N.A. Milas and D.M. Surgenor: J. Am. Chem. Soc. 68, 205 (1946).

豆南海域におけるサンマ *Cololabis saira* (BREVOORT) 稚仔の分布—II.*

小西尚男・倉田洋二・阿部 登

(1960年2月4日受理)

DISTRIBUTION OF LARVAL FORMS OF THE SAURY PIKE, *COLOLABIS SAIRA* (BREVOORT) IN ZU'NAN REGION

Hisao KONISHI, Yoji KURATA and Noboru ABE**

During 1955 and 1956 the authors conducted 87 survey cruises for distribution of larval forms of the saury pink, *Cololabis saira* (Brevoort) in Zu'nan Region extending from Sagami Bay to Torishima (Fig. 1). On the basis of the materials and data made available from the surveys, analyses have been made, in succession to a previous work, in regard to the distribution of the larvae and the length composition of the catch, which may vary depending on locality and year and be related with changes in oceanographical conditions in the region.

The number of individuals of the larvae collected at each station is listed in Tables 1 and 2 together with the data pertinent to total length, gear used and so forth. Noticeable features those tables reveal are as follows. 1) Stations in the vicinity of Torishima showed the distribution in a greater density than any other offshore station. 2) In the inner niche of Sagami Bay, where a water boundary exists, about 150 individuals accrued from a single haul of a larval net. 3) Generally speaking, 856 larvae collected with a dip net between Aogashima and Torishima were greater in total length than those obtained at most of larval netting stations.

By sorting the samples into several groups according to the locality, time and gear of collection, the total length frequency has been compared among the different groups (Fig. 2). As is evident in Fig. 2, the catches both by dip net and by larval net indicate that the length class where the mode takes place is greater in 1956 than in 1955. Considerable numbers of the larvae measuring about 10 centimeters or less in total length occurred in Sagami Bay and in the neighbourhood of Torishima. Furthermore, 18 adults which occurred off Torishima in early March of 1956 and measured 28.83 ± 1.46 cm in body length apparently belonged to a spawning group. These facts suggest that the saury pink spawn substantial quantity of the young in these general localities.

According to oceanographical surveys carried out by the R. V. *To'nan Maru* along a longitudinal line connecting the Izu Islands during the period from 1954 to 1956, the locality of the water boundary between the Kuroshio Current and the littoral waters is moving further offshore one year after another (Fig. 3). Apparently the movement of the water boundary has been dependent on the status of a cold water mass off Enshu Nada. On the other hand, the larval distribution has been nearly twice greater in the Kuroshio Countercurrent area than in the Kuroshio Current area flowing eastwards (Tables 3 and 4). On the basis of these findings it is inferable that a close relation exists between translocation of the major basin of the Kuroshio Current and changes in the spawning conditions of the saury pike and particularly in the length composition of the young whose mode has been found greater one year after another.

Frequency of surface temperature at the collecting stations showed that nearly 75 percent of the stations had the temperature ranging from 18° to 21°C (Table 5).

---

* 東京都水産試験場業績

** 東京都水産試験場 (Tokyo Pref. Fish. Exp. St.).

I. 緒　　言

著者等は前報[1]において豆南海域のサンマ稚仔の分布について報告した。本報では引続き海況変動との関係について調査を行なつたところ 2, 3 の知見を得たのでその結果の一部をここに報告する。

本研究に当つて，有益な示唆を与えられた東北海区水産研究所長木村喜之助博士，いろいろな御忠言をいただいた東海区水産研究所石田昌夫，種々御指導御便宜を計られた東京都水産試験場長鈴木順，同大島分場長森田末蔵の諸氏に対し心から感謝の意を表する次第である。

II. 調　査　結　果

1. 稚仔の分布

1955 年 2 月から '56 年 4 月まで，主として 2～6 月の期間中，相模湾から伊豆諸島海域で 87 回の調査を行ない 1,177 尾の稚仔を採集した。これを一括表示すると Table 1 のようである。まずタモ網で採集

Table 1. Number and total length of young saury sampled in Zu'nan region, 1955～56.

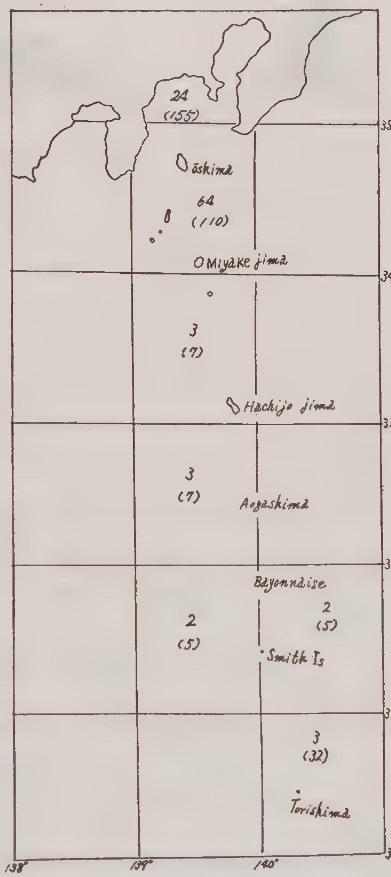
Date	Water Temp. (°C)	Locality		Number of fish	Total length (mm)		Fishing gear
		Lat. N	Long. E		Range	Mean	
55/ 2 / 9	17.4	34°−04′	139°−26′	1	17.0	—	Larval net
〃 〃 〃	18.8	33°−42′	139°−38′	2	16.0−21.0	18.5	〃
〃 〃 /10	19.6	32°−32′	139°−45′	7	15.0−23.0	19.1	〃
〃 〃 〃	19.2	31°−55′	139°−52′	1	24.0	—	〃
〃 〃 〃	19.0	31°−27′	140°−00′	2	14.0−20.0	17.0	〃
〃 〃 /11	19.4	30°−28′	140°−20′	18	7.0−27.0	16.4	〃
〃 〃 /12～17	18.9	30°−20′	140°−19′	517	15.0−83.0	30.5	Dip net
〃 4 /24	18.0	35°−08′	139°−36′	4	13.6−22.2	18.8	Larval net
〃 〃 〃	17.2	35°−06′	139°−31′	150	7.7−18.8	13.5	〃
〃 〃 〃	16.2	35°−01′	139°−14′	10	6.8−33.6	14.4	〃
〃 〃 /26	16.8	34°−56′	139°−10′	2	8.7−14.2	11.5	〃
〃 〃 〃	18.4	34°−51′	139°−11′	8	9.3−32.3	16.2	〃
〃 〃 〃	20.4	34°−36′	139°−14′	3	19.0−40.3	27.6	〃
〃 〃 〃	21.0	34°−27′	139°−11′	4	17.3−30.0	23.0	〃
〃 〃 〃	21.3	34°−17′	139°−09′	1	8.6	—	〃
〃 〃 〃	20.4	34°−08′	139°−26′	2	10.0−20.5	15.3	〃
〃 〃 〃	20.6	34°−12′	139°−30′	48	15.9−28.4	21.2	〃
〃 5 /25	19.2	32°−30′	139°−50′	16	20.0−55.0	40.3	Dip net
〃 6 / 4	20.0	34°−52′	139°−40′	1	34.3	—	Larval net
〃 〃	20.2	34°−55′	139°−44′	1	47.5	—	〃
〃 〃 〃	20.0	35°−06′	139°−28′	1	16.3	—	〃
〃 〃 〃	20.8	34°−59′	139°−07′	1	8.4	—	〃
〃/ 11 / 5	20.4	34°−45′	139°−11′	1	20.6	—	〃
〃 〃 〃	21.6	34°−25′	〃	3	18.0−37.9	23.7	〃
〃 〃 〃	21.9	34°−14′	139°−17′	1	10.7	—	〃
〃 〃 〃	22.8	34°−15′	139°−30′	1	19.8	—	〃
〃/ 12 / 2	19.9	34°−34′	139°−23′	18	6.4−25.7	9.7	〃
〃 〃 〃	20.5	34°−31′	139°−18′	4	6.3−13.9	8.9	〃
56/ 2 /19	15.8	33°−35′	139°−42′	2	65.3−75.2	70.3	〃
〃 〃 〃 〃	18.4	33°−03′	139°−44′	3	26.1−46.0	38.8	〃
〃 〃 〃	19.2	31°−55′	139°−52′	4	13.7−22.4	16.9	〃
〃 〃 〃	19.0	31°−27′	140°−00′	3	20.3−36.7	26.9	〃
〃 〃 〃	19.0	30°−54′	140°−10′	14	16.7−55.6	24.6	〃
〃 〃 /28	18.2	30°−20′	140°−19′	274	19.4−66.4	32.3	Dip net
〃 4/6～8	20.0	32°−30′	139°−50′	24	27.4−80.2	54.1	〃
〃 5 /14	18.4	〃	〃	25	24.3−73.3	52.5	〃
Total				1,177			

Table 2. Summarized data on netting operation for young saury.

Type of gear	Year	Month	Number of netting operation		Number of larvae
			Attempted	Succeeded	
Larval net	1955	II, IV, VI, XI, XII	59	26	259
〃	1956	II, V	42	5	26
Dip net	1955	II, V	2	2	533
〃	1956	II, IV, V	3	3	323
Total			106	36	1,177

されたうち鳥島で '55 年および '56 年の 2 月中旬～下旬に 791 尾，青ヶ島で '55 年 3 月中旬～4 月上旬および '56 年 3 月下旬 65 尾採集した。つぎに稚仔網で 1 地点 10 尾以上採集されたのは，沖合では '55 年 2 月鳥島 N 1 浬とスミス島 S 20 浬でまた，沿岸水域では '55 年 4 月城ヶ島 WSW 18 浬（相模湾奥）で 150 尾，伊東 ENE 25 浬 10 尾，三宅島 NNW 15 浬 48 尾，同 12 月大島 S 7 浬 18 尾を採集した。Table 2 に各年別の曳網回数と稚仔の採集数を示す。また緯度，経度 1° 桝目内の曳網数と採集数は Fig. 1 のとうりである。

Fig. 1. Distribution of saury larvae per 1° square in Zu'nan region, 1955–56.*



* Numerals enclosed in parentheses indicate the number of larvae, and those outside parentheses the number of tow netting.

2. 稚仔の全長組成

1954 年から '56 年の 3 カ年間，鳥島近海で 2 月中旬から下旬タモ網によつて採集された稚仔は 932 尾で '55 年および '56 年の全長組成を示すと，Fig. 2 (A～B) のようである。モードは '54 年には 20 mm にあるが 35 mm, 55 mm の体長群も混在している*。'56 年には 25 mm にあり 50 mm の群もかなり出現し (A)，'56 年には 30 mm の単峯の群が採集された (B)。

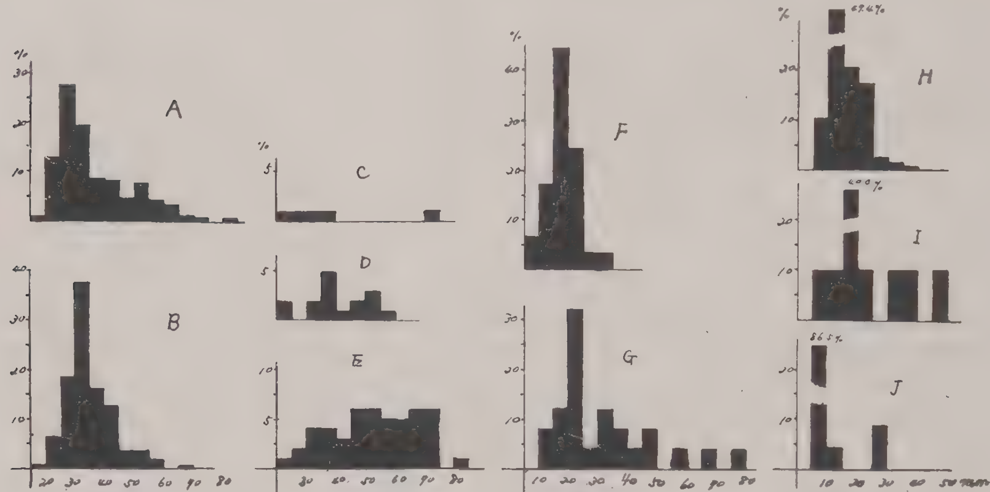
青ヶ島近海で 3 月中旬から 4 月上旬，タモ網で採集されたものは計 69 尾で，モードは '54 年には僅か 4 尾であるから除外し，'55 年には 35 mm にあるが 50 mm にもまた，'56 年には 50 mm と 70 mm にあり 35 mm の群がそれぞれ混在している (Fig. 2, C, D, E)。

つぎに伊豆諸島海域で稚仔網で採集されたものは，'54 年には 5 mm にモードがあり 55 mm のものも混在している (Fig. 2, F, G)。

沿岸水域の相模湾から三宅島近海で '55 年 4 月～6 月稚仔網で採集されたものは，4 月には 10 mm, 6 月 15 mm, 12 月 5 mm にそれぞれモードをもつ小型稚仔が多数採集された。しかし 6 月 35 mm, 45 mm, 12 月 25 mm の群が

* 前報で述べたが，本研究に必要につき再録。

Fig. 2. Total length frequency of young saury collected in Zu'nan region, 1955-56.*



* A: 517 individuals fished with a dip net in Torishima, 1955.
B: 274 〃 〃 〃 , 1956.
C: 4 〃 〃 Aogashima, 1954.
D: 16 〃 〃 〃 , 1955.
E: 49 〃 〃 〃 , 1956.
F: 29 〃 larval net in Zu'nan region, 1955.
G: 25 〃 〃 〃 , 1956.
H: 217 〃 〃 Sagami Bay, April, 1955.
I: 10 〃 〃 〃 June, 1955.
J: 22 〃 〃 Ōshima region, Dec., 1955

それぞれ混在している (Fig. 2, H, I, J)。

以上のことから，

（1） 集魚灯で集めタモ網で採集した標本は，前報[1]同様稚仔網で採集したものより大きい。

（2） 鳥島でタモ網で採集した標本と，伊豆諸島全般の海域で稚仔網で採集したものはともに年次の増加に比例してモードの位置が大きくなつている（タモ網は 5 mm，稚仔網は '54 年と '55 年は 10 mm，'55 年と '56 年は 5 mm)。

（3） 伊豆諸島北部水域に出現した小型魚は発生直後のもので，この付近で多数産卵が行なわれたことを意味する。

（4） 鳥島近海で '55 年 2 月 11 日 10 mm 前後の標本が採集されたことから，この方面でも産卵が行なわれたことを実証している。これを裏付けるものとして '56 年 3 月上旬，同海域で成魚（産卵群と思われる平均体長 28.83 cm ± 1.46 cm) 18 尾を得た。*

3. 海況変動と稚仔の分布

（1） 伊豆諸島近海　1954 年 2 月遠州灘沖合の冷水塊の強勢で，このため黒潮は冷水塊を迂廻して 31°N, 138°E から北転し伊豆諸島に沿って北進し，三宅島付近から NE に流去している。'55 年 2 月には冷水塊の状態は前年と大差はないが，黒潮はやや北側に寄り 31°-30′N, 138°E で NE 進し，三宅島と八丈

* 指導船都南丸が鳥島近海における“春とびうお流刺網漁業試験”に“とび刺網” 24 反(1 反 34.85 m)の外側に“サンマ流刺網”(綿糸 2 号 10 節 100 掛長さ 34.85 m) 1 反を結付して漁獲した。

島間に衝突して発散し複雑になつている。'56 年 2 月冷水塊ははなはだ弱まり黒潮は著しく接岸して 33°N, 138°E を ENE 進している[3]。

つぎに指導船都南丸が '54 年〜'56 年の 2 月に実施した大島 S 1/2 E 線の観測 data により川合の方法[2]により黒潮が観測線と交わる位置を決定すると Table 3 のようである*。これによると黒潮主流と沿岸水の潮境の位置は '54 年には大島〜三宅島, '55 年三宅島〜黒瀬, '56 年黒瀬〜八丈島間にそれぞれ存在している。このことから黒瀬主流は年々沖に離れていくことがわかる。しかし本邦南方海域全般からみれば, 冷水塊の弱まりとともに黒潮が接岸している。黒潮が接岸すれば高温となり沖合に出れば低温となるはずで冷水塊の消長と密接な関係があり, 定地観測 (波浮港外) の結果からもよく説明されている[4]。また Table 3 の符号の正は東向流, 負は西向流を意味しており, G, E, K の結果とよく一致している[3]。つぎにこの調査から流向別の稚仔の分布は Table 4 のとうりであり, 黒潮流域 (東向流) よりも沖合の反流域 (西向流) の方が約 2 倍多い。前述のとうり相模湾から, 鳥島に至る海域で採集された稚仔のモードが年次を増すごとに大きくなつており, 黒潮主流も年次を増すごとに沖合に離れていくことから, サンマ成魚の南下洄ゆう, 産卵場, 産卵時期等と密接な関係があると思われる (Fig. 3, A, B, C)。

Table 3. Differences of vertical mean temperatures or surface temperatures between two adjacent stations along the meridian south of HABU, ŌSHIMA*.

Number of St.	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10
Position of Ship	Ōshima S 4 mile		Miyake-jima		Kurose Bank		Hachijo-jima		Hachijo S20 mile		Aoga-shima		Bayon-naise		Smith Is		Smith Is S30 mile		Tori-shima
Dist.(mile)		30		30		30		20		20		30		30		30		30	
II 1954		+ **1.1**		+ 0.2		+ 0.7		+ 0.9		0		− 0.2		− 0.1		− 1.8		+ 0.6	
II 1955		− 1.0		+ **2.6**		+ 0.5		—		+ 0.3		− 0.3		− 0.6		—		+ 0.5	
II 1956		+ 0.1		+ 0.2		+ **3.3**		—		+ 1.2		− 0.2		− 0.1		− 0.1		− 0.2	

* The light faced numerals are based on vertical mean temperatures at layers of 0, 50, 100 and 150 m, and the bold faced numerals, on surface temperatures in the water boundary.
The values following plus or minus indicate the difference between either in the current flowing eastward or in the westward current, respectively.

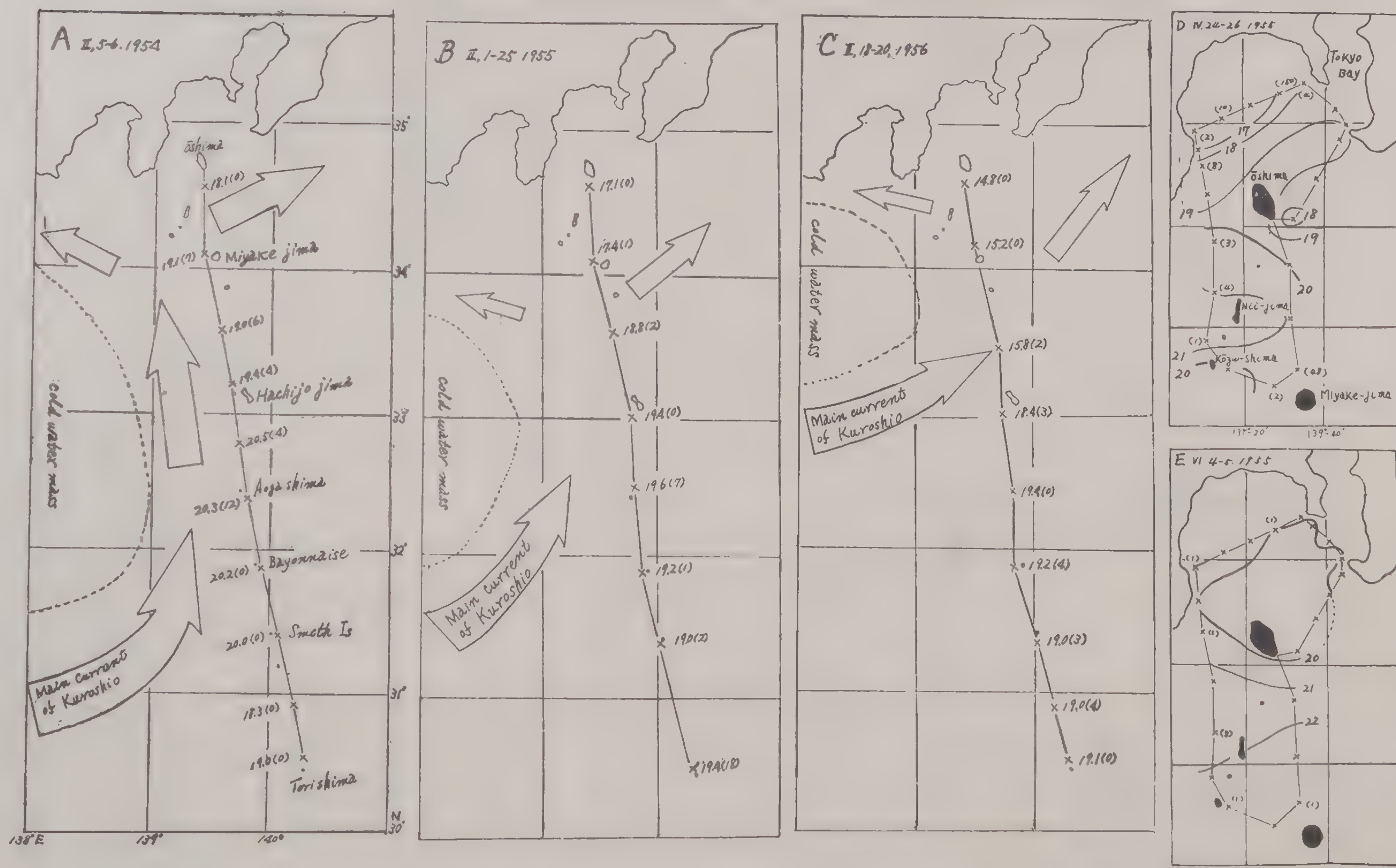
Table 4. Number of saury larvae collected in different current areas.

Direction of current	Year	Number of netting operation		Number of larvae
		Attempted	Succeeded	
Eastward current	1954	5	4	21
	1955	3	2	3
	1956	4	2	5
Total				29
Westward current	1954	1	1	12
	1955	5	4	28
	1956	5	3	21
Total		11	8	61

(2) 相模湾〜三宅島海域 '55 年 4 月, 6 月都南丸の調査によると, 黒潮分枝流とみられる 20〜22°C 級水帯が大島と三宅島間を東向しており, ことに 4 月は分枝流の一派は相模湾に舌状に流入しているので, 相模湾奥に沿岸水との著しい潮境が形成された。この潮境で 1 網 150 尾の記録的採集を行なつた。また三宅島 NNW 15 浬の地点でも 48 尾採集した (Fig. 3, D, E)。

* 実際の数値計算は次式によつた。$\overline{T} = \frac{1}{4}(T_0 + T_{50} + T_{100} + T_{150})$

Fig. 3. Schematic chart showing current direction and isothermal contours in Zu'nan region, 1954-56.*



* Numerals enclosed in parentheses indicate the number of larvae, and those outside parentheses surface temperature (°C).

4. 採集水温

1948 年 11 月から '56 年 2 月まで，採集地点における表面水温を測定した結果，最高水温は '50 年 6 月 4 日 22.8°C，最低水温 '56 年 2 月 19 日 15.8°C で，採集毎の頻度分布は Table 5 に示され，18～21°C が全体の 75% に当る。

Table 5. Frequency distribution of water temperature.

Class (°C)	Number	%
15～16	1	2
16～17	3	5
17～18	3	5
18～19	11	20
19～20	18	33
20～21	14	25
21～22	4	8
22～23	1	2
Total	55	100

III. 要　約

(1) 1955 年～'56 年における伊豆諸島海域のサンマ稚仔は，3～6 月にかけて沿岸水域から鳥島に至る一帯に分布している。

(2) 鳥島でタモ網で採集されたものも，伊豆諸島全般の海域で採集されたものもともに年次増加に比例してモードが大きくなつている。

(3) タモ網で採集した標本は，稚仔網のものより大きい。

(4) 伊豆諸島北部水域（相模湾～三宅島）および鳥島近海で発生直後の小形稚仔が採集されたことから，この水域で多数産卵が行なわれていると考えられる。

(5) 稚仔はごく沿岸水域を除いて，黒潮流域よりも沖合の反流域に多い。

(6) 列島線上において黒潮主流は年次の増加に比例して沖合に離れていることと，稚仔のモードが大きくなつて行くことは，成魚の南下洄ゆう，産卵時期等に関係がありそうである。

(7) 採集水温は 18～21°C が全体の 75% を占めている。

文　献

1) 倉田・小西・草刈： 本誌，**22**，(3)，pp. 162～166 (1956).
2) 川合英夫： 東北水研研究報告，**4**，pp. 12～14 (1955).
3) 水 路 部： 海況速報，海況概報，**1**，(1954～1956).
4) 三村哲夫： 東水試研究会資料（謄写），(1956).

コウイカ *Sepia esculenta* HOYLE の甲の室率による種族制定法について

八 木 貞 二

(1960 年 4 月 12 日受理)

STUDIES ON THE IDENTIFICATION METHOD OF RACES IN *SEPIA ESCULENTA* HOYLE BY USING THE LOCULAR INDEX OF SHELLS.

Teiji YAGI*

As for locular index, it has been believed that each race of the cuttlefish has its own value, though a decline in value of the index with the length of shell was noticed by some reporters. But it seems that both of those conceptions have to be examined.

Therefore 109 specimens of *Sepia esculenta* HOYLE caught in Tokyo Bay, in the season from October, 1953 to June, 1954 and in May and June, 1957, were used for morphometric analyses on locular index, and 790 individuals caught during the fishing season in various waters of Japan for reference.

According to the correlation coefficients calculated between the locular index and other three elements, the age in days estimated by fishing date, the number of stripes found on the ventral surface of the shell and the shell length, it was found that the locular index did not decline in value with the length of shell, but with the age or the number of stripes (Fig. 2, 3, 4). Accordingly it might be suggested that the age (fishing date) and the number of stripes adding to the index are very important to serve as standard of comparison between races. And it is obviously desired to make comparison of the index among specimens caught at the same time of the season.

Tracing to the length of shell and last locular at various stages of the growth, left in median longitudinal section of a shell (Fig. 1), a graph of the locular index can be followed through the life for each individual (Fig. 5). By using the graph obtained in such a way, we can easily find a basis of comparison of shell growth between races of the cuttlefish.

緒 言

コウイカは日本の中央部以西各地の沿岸に産する産業上の重要種であるが，その種あるいは種族的特徴とされている甲についての成長ないし形態の研究はきわめてすくない。コウイカ甲の腹面にある無論帯 (last locular) 長の甲長に対する百分率は室率 (locular index) として種族または variation の判定に用いられ，日本産コウイカについて種々の値があげられてきた。また一方，室率は甲の成長により変動するが，成体ではその値に大小二群があるともされている。すなわち，種族にはそれぞれ固有の室率値があると考えられているが，これら従来の見解はなお検討されねばならない多くの問題を含んでいるように思われる。

筆者はコウイカの成長に伴なう室率の変動を追跡し，またその変動に関係する要因の分析を行なつて，従来の室率に関する考え方の検討を試みたのでここに報告する。

* 東京大学農学部水産学科 (Fish. Dep., Fac. Agr., Univ. Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan).

材料および方法

用いた材料は東京湾内の各地で 1953 年 10 月より 1954 年 5 月に至る間，および 1957 年 5, 6 月に漁獲されたコウイカ (*Sepia esculenta* HOYLE) 109 個体で，他に 1958 年東京湾産の幼若個体および三河湾，神戸，壇ノ浦，門司，鐘崎，博多湾，呼子，佐世保，島原の各地で 1958 年 5 月に得た標本 148 個体，その他東京市場で随時得られた標本 542 個体を比較参考に供した。

1) 室率の成長に伴なう変動を調べるために，ほぼ周年的に得られたコウイカの室率と甲長，age，および縞数との各相関係数を算出比較した。甲は無固定のまま乾燥させ，毀損しやすい棘およびキチン縁を含めずに甲長 (L) と無輪帯長 (l) を 0.1 mm 単位で測定し (Fig. 1)，室率は $\frac{l}{L}\times 100$ によつて計算した。またコウイカの age は推定孵化月日からの日令で表わした。本種は一年生で，しかも孵化はほぼ同時に起るとされており[1] 東京湾では 7 月 1 日[2] を推定孵化月日として漁獲月日までの経過日数を age とした。

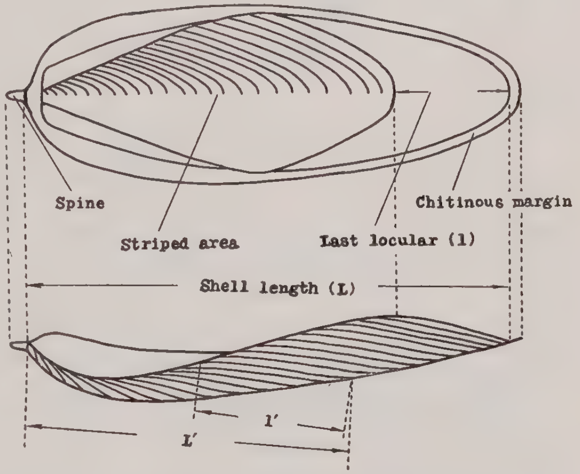


Fig. 1. Shell of *Sepia esculenta*. Upper: ventral view, Lower: lateral view of median longitudinal section. L': shell length at some stage of growth, l': last locular length at the same stage as "L'".

Locular index is calculated by $\frac{l}{L}\times 100$ or $\frac{l'}{L'}\times 100$.

2) 同一個体について，室率の成長に伴なう変動を調べるため，甲内に記録されている過去の室率を測定し，成長過程における変動を追跡した。すなわち甲の正中縦断面について，棘基部にある最初の縞から数えて 10 本目毎の縞につき，それの形成されたときの甲の長さ (L') と無輪帯長 (l') を測定し，それぞれ室率を求めた (Fig. 1)。材料は前記東京湾産コウイカ 109 個体のうち，甲長の成長曲線の平均が全資料の平均となるよう任意に選んだ 6 個体を用い，それらの平均を以つて図示した。なお，この方法は別報[3] に示した通り，甲は形成後に第二次的成長あるいは吸収等による形態の変化はないと認められるので，室率変動の追跡に利用し得るものである。

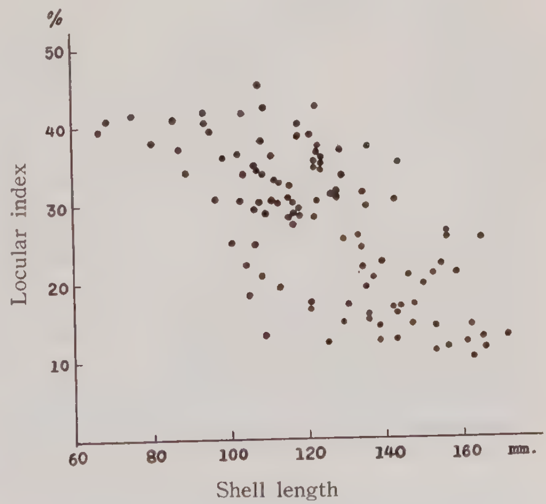


Fig. 2. Relation between the shell length and teh locular index. The correlation coefficient is calculated as $r_1 = -0.677$ $(0.560 < |\rho_1| < 0.767)$. There is not so close relation between the two.

結　　果

1) 室率と甲長，age および縞数との相関々係

1953～4 年の材料について甲長と室率との関係を示したのが Fig. 2 である。雄の室率は雌に比してやや大なる傾向にあつたが，雌雄差を認めるのに充分な標本数ではないため，以下も同様両者を区別せずに扱つた。図に示したごと

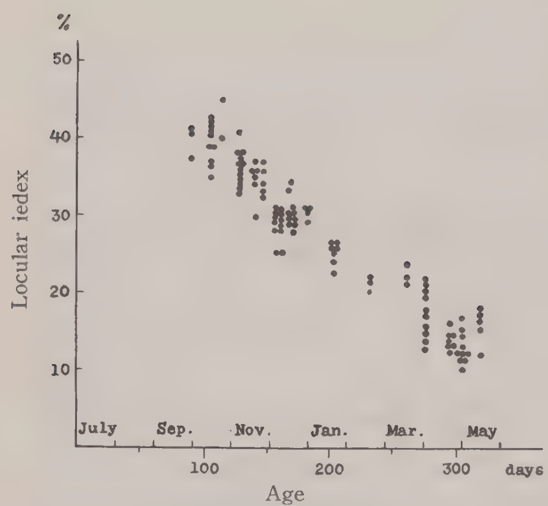


Fig. 3. Relation between the age and the locular index. The correlation coefficient is calculated as $r_2 = -0.953$ $(0.931 < |\rho_2| < 0.963)$, which shows their close relation. The age is computed by the surmising date of hatch.

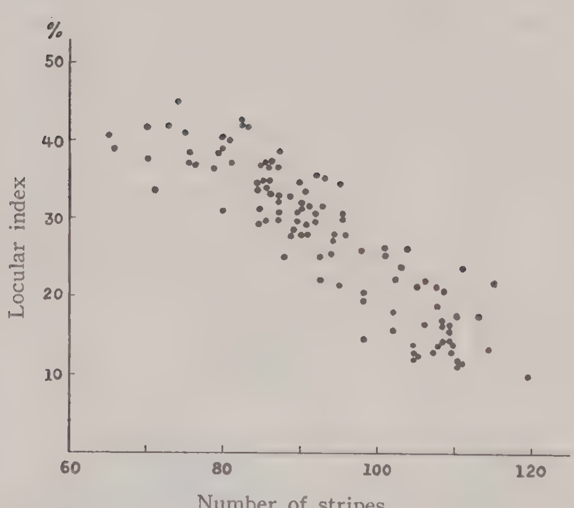


Fig. 4. Relation between the number of stripes and the locular index. The correlation coefficient is calculated as $r_3 = -0.890$ $(0.838 < |\rho_3| < 0.924)$, which shows their close relation.

く，室率は甲長の伸びるにしたがつてその値を減ずる傾向が認められるが，同一甲長の個体間でもかなりまちまちの室率を示し分散の大きいことが知れる。109 個体の標本について算出した甲長と室率との相関係数は $r_1 = -0.677(0.560 < |\rho_1| < 0.767)$ で両者の相関は比較的低い。

age と室率との関係を Fig. 3 によつてみると，室率は age の大となるにしたがつてきわめて明瞭に減少している。すなわち 11 月では室率の値 45～35，5 月以降では 20～10 となり，それらの中間の時期では直線的に減少し，その分散は充分に小さい。両者の相関係数は $r_2 = -0.953(0.931 < |\rho_2| < 0.963)$ でかなり高い相関のあることを示している。

つぎに甲の腹面にみられる縞模様の縞数と室率との関係を Fig. 4 によつてみると室率は縞数の増加に伴なつて明らかに減少し，分散は小さい。すなわち縞数 70～80 では室率が 30～45 であり，100～110 となると 10～25 に減少している。両者の相関係数は $r_3 = -0.890(0.838 < |\rho_3| < 0.924)$ であつた。

以上のごとく，室率は甲長，age，縞数が大となるにしたがつて減少し，それぞれ各要因と負の相関を示すことがわかつた。そして三組の相関係数，r_1, r_2, r_3 の各値の間には 95% 水準で互に有意の差が認められ，室率との相関の度合は甲長より縞数が高く，さらに age が最も高位であつた。すなわち室率の値は成長に伴なつて変動するものであるが，甲長との間には密接な相関はみられず，age または縞数の増加に伴なつて減少するものであるといえよう。

2) 同一個体における室率の変動

甲の正中縦断面より得られる資料によつて，縞数の増加に伴なう室率の変化を追跡してつぎの結果を得た。Fig. 5 においては横軸に縞数をとり，縦軸にその縞に対応する甲長 (L') および無輪帯長 (l') をとり，さらにこれらによつて得られた室率を表わしたものである。Iは縞数の増加に伴なう甲長の伸びを表わし，これがS字状成長曲線にしたがつていることを示している。IIは各縞に対応する無輪帯長の消長を表わしているが，その長さは甲長の増加率の最大となるときにやや後

れて最大値約 40 mm を示し，以後成長に伴なつて次第に短くなつていく。Ⅲの室率は，はじめやや増加して約 45 に達した後直線的に下降して，縞数約 110 で値 15 となつている。縞数 70 以上の部分の室率の変動はさきに統計的に求めた室率と縞数の関係にほとんど一致しているのが分る。

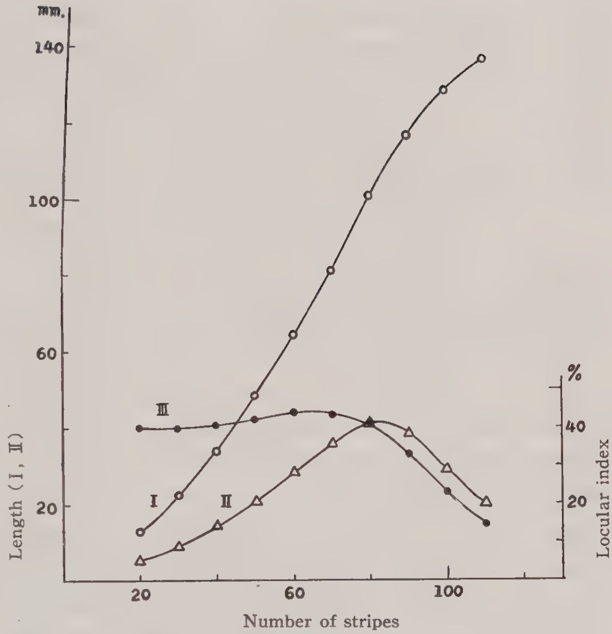


Fig. 5. Plotting the shell length (Ⅰ) and the last locular length (Ⅱ) against the number of stripes, traced from the median longitudinal sections of shells (Fig. 1). The locular index (Ⅲ) calculated by Ⅰ and Ⅱ changes its value just the same trend as the latter half of Fig. 3. Each point indicates the mean value derived from 6 specimens examined.

考　　察

1) 結果において述べたごとく，コウイカ甲の室率は成長に伴なつて減少するものであるが，その値は甲長の大小には密接な相関が認められず， age および縞数の大となるにしたがつて減少するものであることがわかつた。しかし従来コウイカの種族に関して室率を扱つた報告においては，この点について留意しているものがほとんど見当らない模様であり，日本産コウイカの室率はつぎのごとくである。HOYLE (1886)[4]は雌 17, 雄 22 とし, APPELLÖF (1885)[5] は雄について 25, ORTMANN (1888)[6] は雌 15, 雄 19 とそれぞれまちまちの値を示した。また佐々木 (1910)[7] はコウイカを二つの variation に分けて一群を雌 35, 雄 30～45 とし，他の群を雌について 16～18 であるとして，それぞれ variation A および B と呼んだ。また佐々木 (1929)[8]によれば，室率の大きさは age および性に無関係に，25～40 および 15～23 の二つの型に分けられるとした。これとは別に山本 (1945)[9]は朝鮮および西南日本沿岸の各地より得たものについて，甲長 70 mm 以上の成体では室率の大なる群 (36～55) と小なる群 (14～27) の大小二群に分かれ，これらは必ず異なる地域より得られたことから地方的変異であろうと述べた。以後の報告はほぼこれに倣つて，安田 (1951)[10] は三河湾産コウイカの室率 19～36 を得て，これは山本の小なる群か中間型に属するであろうと述べた。東京湾のコウイカについては古井戸他 (1953)[11]は 19～28 および 36～39 の二群に分けた。一方，山本[9] は，室率は甲の成長に伴なつて減じ，はじめ高い値を示すが成長とともに二群に分かれるものであるとした。また石川・岩井 (1958)[12]は東京湾のものについて調べた結果，45 から 13 までの連続的な値を得て，室率は甲の成長とともに減ずるものであつて二群には分ち難いとした。また別に JETTA (1896)[13] は地中海産 *Sepia officinalis* について調べ，甲長と無輪帯の割合は甲成長に伴なつて変化するもので，種特有の値をあげることは不可能であると簡単に述べている。以上のごとく，室率に関しては種々の値や見解が出されており，そのうち多くのものは各種族に固有の室率値があるごとく扱つているが，これらは成長に伴なう室率の変動を無視した結果によるもので，明らかに誤りであると思われる。

また室率は甲の成長に伴なつて減少すると認めている場合でも，その扱い方において，成長とは甲長の伸びを意味したものであつて，age や漁獲時期の推移あるいは縞数の増加を指したものではない。ゆえに前にも述べた理由で，甲長が大となるにしたがつて室率が減少するという扱い方は明らかに不正確で，かつ誤つた結果を導くことさえあると考えられる。すなわち Fig. 2 によつてみれば，同一甲長を示す個体間でも室

率の値には大きな分布巾があり，たとえば甲長約 110mm の標本群では室率の最大値は 45.0，最小値は 12.5 で大きな開きがみられる。しかし，この二標本を漁獲時期からみると，前者は 11 月，後者は翌年 5 月であつて age に著しい差があり，この点からみれば室率の相異はむしろ当然である。また縞数はそれぞれ 74 および 106 で age に相当した値を示している。そしてこの二標本は室率と age および縞数との関係を表わした Fig. 3, 4 の中でみれば何等特別の位置にはないことからも，室率の値を甲長との関連において考えることの危険性を示している。ところが山本[9] は甲長と室率との関係から成長に伴なう室率の変動を論じている。そして室率は甲長が大となるにしたがつて減少するとし，さらに甲長 70mm 以上の個体では室率は大小の二群に分れると指摘した。すなわち，一群では室率が成長に伴なつてわずかに減少するが，他は甲長 100mm より急激に減少して二群に分れたものであるとした。しかし，山本の示した同一甲長の標本群の中には当然 age の異なるものが含まれていると考えてよいであろう。したがつて同一甲長の標本群が室率の大きさによつて二群に分れたのは，たまたま age 組成が二群に分れていたために形成された見かけ上の群ではないかとの疑問が生ずる。先にあげた甲長と室率との関係を示す Fig. 2 において 1, 2 月に漁獲された標本を削除するならば，室率 30 を中心とした一群の点が消去されてしまうために，残る点は大小の二群に分離し山本の示した図と似寄つたものとなる。しかも 1, 2 月の時期はコウイカが沖合の深部に移動し内湾および沿岸での漁獲が行なわれないときである。そこで，この時期の標本だけが調べられなかつたために age の異なる二群に分かれたという可能性も考えられるのではなかろうか。しかし山本の報告では標本の age に関する資料が示されていないので，これ以上の検討は避けねばならない。佐々木 (1929)[8] が示した室率の大小による二つの型は age に無関係であるとだけ触れているが，これについても検討されねばならないと考える。比較のため東京市場で得られた産地不明の標本では室率の分布巾は比較的大きいが，季節にしたがつて値を減じ，また本州中部以西および九州の各地より得られた標本の室率は幼若期に高く，その後減少して 5 月にはすべて 20 以下の小なる値を示した。この中には山本が室率の大なる群に相当する標本のみを得たという博多湾も含まれている。なおこれら各地より得た標本に関する詳細はつぎの機会に報告する予定である。

以上のごとく室率は成長に伴つて値を減ずるものであるが，特に age および縞数との相関が高く，甲長との相関は低いので室率の変動を甲長との関係で表わすことは正確さを著しく欠く。したがつて種族判定の目的で室率の値を比較するときは，age または縞数を同時に示さなければ無意味であると考える。さらに室率の値は同一時期に漁獲した標本について比較すべきであろう。従来報告された種族判定のための種々の室率の値はこの点で多くのものが比較資料としての根拠薄弱である。

2) 別報[3] において，甲の正中縦断面に見られる各部位の縞とそれぞれの縞に対応する甲長との関係を画けば，縞数を age 形質とした甲の成長曲線を追跡し得ることを示した。本報告の結果にあげたごとく，同様な方法で同一個体内での成長に伴もなう室率の変動を，全成長期間にわたつて追跡することができる。これによつて求めた変動曲線によれば，室率は幼若時に大なる値であるが，ある成長段階より急激に減少することを示している。そして室率がかような変動をするものであることを甲形成の様式から裏付けるのに役立つている。またこの結果はさきに統計的に求めたものによく一致していたことから，この方法を用いれば周年的に集めた材料によらなくても，成長後期の材料のみで室率変動の追跡が可能であることが分る。また異なる標本群の室率の変動様式を簡単に比較することも容易となるので，種族判定上にこの方法はきわめて有効であると考えられる。

要　　約

東京湾産コウイカ *Sepia esculenta* HOYLE の甲を用いて成長に伴なう室率の周年的変動を追跡し，室率の大きさによる従来の種族判定法を検討した。

1) 10 月～6 月に漁獲した 109 個体について求めた相関係数によれば，室率との相関は age が最も高く，これについで縞数であり，甲長は最も低かつた。よつて従来，コウイカの室率は甲長の伸びに伴なつて

減少するとされていたが，age あるいは縞数の増加に伴なつて減少すると訂正されねばならない。

2) 室率の値は報告者あるいは産地によつて種々であり，一般に種族に固有の値があると考えられてきた。しかし，種族判定のための室率の比較は同一時期の標本について行なうべきで，従来の結果には疑問が多い。また室率の値には漁獲時期および縞数を併せて記載することが必要である。

3) 甲の正中縦断面にみられる縞模様から，過去の室率を追跡すれば，周年的調査方法によらないでも成長に伴なう室率の変動曲線が得られる。これは種族判定を行なうための甲成長様式の比較にきわめて有効である。

本研究に当つて終始御指導賜わつた末広恭雄教授，日比谷京助教授に深謝の意を表するとともに，研究材料を提供して下さつた東京大学農学部岩井英次氏ならびに材料の採集に御協力下さつた諸氏に厚く感謝します。

文　献

1) 山本孝治: 植物及動物, **10**, 125～130 (1942).
2) 八木貞二: 未発表.
3) ———: 本誌, **22**, 646～652 (1960).
4) HOYLE, W. E.: Rep. Sci. Voy. Challenger, Zool., **16**, 129 (1886).
5) APPELLÖF, A.: *Kongl. Svenska Vet. Akad. Handl.*, **21**, 13, 28～30 (1885).
6) ORTMANN, A.: *Zool. Jahrb. Abth. Syst.*, **3**, 649 (1888).
7) 佐々木 望: 動雑, **22**, 368 (1910).
8) SASAKI, M.: *Jour. Coll. Agr. Hokkaido Imp. Univ.*, **20**, 115～176 (1929).
9) 山本孝治: 貝類学雑誌, **14**, 62～72 (1945).
10) 安田治三郎: 本誌, **16**, 350～356 (1951).
11) 古井戸良雄・倉田洋二・川上武彦: 水産増殖, **3**, 40～50 (1953).
12) 石川 昌・岩井英次: 日本大学農獣医学術研究報告, **9**, 43～51 (1958).
13) JETTA, G.: Fauna Flora Golfes Neapel, **23**, 26, 149～153 (1896).

東京湾産コウイカ *Sepia esculenta* Hoyle の甲の成長について

八木貞二

(1960 年 4 月 12 日受理)

ON THE GROWTH OF THE SHELL IN *SEPIA ESCULENTA* Hoyle CAUGHT IN TOKYO BAY.

Teiji Yagi*

Some biometric studies were made on the growth rate of the shell and the striped pattern found on the ventral surface of the shell in *Sepia esculenta* Hoyle, by using 148 specimens and 36 specimens just after hatching caught in Tokyo Bay.

1) The age of *S. esculenta* in Tokyo Bay could be determined by the date of hatch around July 1st. In case it does not give any date, the number of stripes is preferable to the shell length for age determination, because the coefficient of variation of the former is smaller than that of the latter in its value.

2) When the shell length was plotted against its age in days, the growth curve of the shell could be represented by the equation of an autocatalytic monomolecular reaction: sigmoid growth formular. The obtained equation (2) gave the maximum velocity of the shell growth to the specimens around 100 days of age (early October).

3) A sigmoid growth curve composed of two cycles (equation (5)) was found to give the best results when applied to Fig. 3, where the number of stripes was plotted against its age in days. From the equation, the period forming a stripe was deduced to be about 1.5 days at the first maximum and to be about 3.5 days on an average through the life. However the second maximum at 230 days of age was rather vague. It may be a remarkable fact that the forming period of the stripes has not any constant value during the growth term.

4) Plotting the shell length against its number of stripes, Fig. 3 was represented by the equation (6): the sigmoid growth curve with a maximum velocity of shell growth at 72 in number of stripes.

When a median longitudinal section of a shell was prepared, we could easily trace the length of shell and the number of stripes left in the shell at various stages of growth. And the growth curve of shell deduced, in this way, from several specimens out of the whole gave an equally satisfactory agreement with Fig. 3. Thus, we can easily apply the method without serial specimens caught in the whole fishing season. Therefore it is thought that the method and the resulting curve of shell growth will be useful to make a standard of comparison among races of the cuttlefish.

緒　言

コウイカの甲は極めて成長が早く，また明瞭な縞構造からできている点で軟体動物の硬組織の成長の研究上好適な材料であると考えられる。また甲の形態は分類学上からも重要視されているが，その形態成長に関しての研究は極めてすくなく，わずかに Appellöf (1893)[1] および安田 (1951)[2] の報告で簡単な記載が行われているにすぎない。

* 東京大学農学部，東京医科歯科大学医学部 (Fac. Agr., Univ. Tokyo & Fac. Med., Tokyo Medical Dental Univ.).

筆者は甲の成長様式を推定 age および縞数を以て追跡することを試み，また縞模様の形成速度および周期について二，三の知見を得たので結果を報告する。

材料および方法

用いた材料は 1953～1954 年および 1957～1958 年にわたる漁期に漁獲された東京湾産コウイカ *Sepia esculeuta* HOYLE 148 個体で，同一漁獲群毎に甲長および縞数の資料を Table 1 に示した。また孵化直後の甲長および縞数は 1958 年木更津において得られた 36 個体の標本により求めて計算資料とした。

甲長測定は甲後端にある棘基部より先端部の無輪帯 (last locular) 外縁に至る長さを以て表わし，キチン縁および棘は乾燥により収縮または毀損し易いので除外した。測定はノギスを用い 0.1 mm 単位で行つた。また縞数は棘基部に埋没している孵化前に形成された部分をも含めて全数を数えた。

Table 1. Shell length and number of stripes found on the ventral surface of *Sepia esculenta* HOYLE.

Age in days*	No. of specimens	Shell length			No. of stripes		
		Range (mm)	Average (mm)	C. V.** (%)	Range	Average	C. V.*** (%)
42	2	25～ 34	29.45	23.3	30～ 31	30.50	2.3
66	10	43～ 56	49.54	10.1	42～ 51	45.80	6.2
96	14	59～101	74.42	13.9	58～ 75	64.29	6.7
102	5	47～106	79.60	32.4	53～ 81	66.60	14.8
122	3	69～ 89	74.67	7.6	65～ 79	68.33	4.4
123	8	77～117	94.95	15.3	68～ 84	75.00	8.1
138	10	67～122	98.00	15.8	66～ 83	78.10	7.1
148	2	108～118	113.00	6.3	74～ 81	77.50	6.4
160	13	89～136	112.77	13.1	71～ 91	83.46	7.0
172	6	123～143	128.50	6.2	84～ 96	90.83	5.6
178	5	104～123	115.60	6.8	85～ 87	82.60	1.0
190	6	106～134	114.17	9.2	84～ 96	89.83	5.1
194	6	100～122	110.50	2.4	87～ 96	90.17	3.7
198	4	113～143	128.50	10.3	89～ 94	91.00	2.7
201	6	108～128	118.50	6.3	83～ 93	88.67	4.3
215	4	97～128	113.00	11.5	79～ 90	85.25	5.7
235	7	129～165	144.29	10.0	94～104	100.43	3.4
260	3	134～152	145.33	6.8	95～105	99.33	5.3
291	3	146～158	152.33	4.0	106～115	110.67	4.1
305	10	104～162	129.80	14.0	92～113	104.00	6.0
326	7	109～173	139.00	13.8	104～114	107.71	3.0
332	9	142～166	156.22	5.4	108～119	110.11	3.1
347	5	104～135	123.00	9.6	102～110	105.20	3.5

The shell length and the number of stripes at 0 day of age were observed as the average of 4.2 mm (C.V. = 6.7%) and 7.0 (C.V. = 8.2%) from 36 hatching individuals.
* Age was determined by the date of hatch estimated. ** The averge is 11.06%.
*** The average is 5.20%. C.V.: Coefficient of variation.

結果および考察

甲長および縞数の雌雄差について同一漁獲群内で比較してみると，二，三の群の場合は 95% 水準で有意差が認められたが，その差に一定の傾向がなく，大部分は雌雄の間に差を認めるに充分な標本数ではなかつた。従つて本報告では雌雄を区別せずに扱つた。

I. age の査定

1) 漁獲月日による方法： 自然環境下におけるコウイカの孵化は短期間に集中して起ると考えられているので[2),3)]，孵化月日を推定すれば寿命が 1 ヶ年以内のコウイカの age は漁獲時までの経過日数で表わすこ

とができる。東京湾産コウイカの孵化月日は，木更津市桜井沖における活簀飼育によつて得られた観察結果*に従つてほぼ7月1日を中心とする短期間であると推定した。以後本報告中の age はすべて7月1日に孵化したものとして算出した推定 age を用いた。

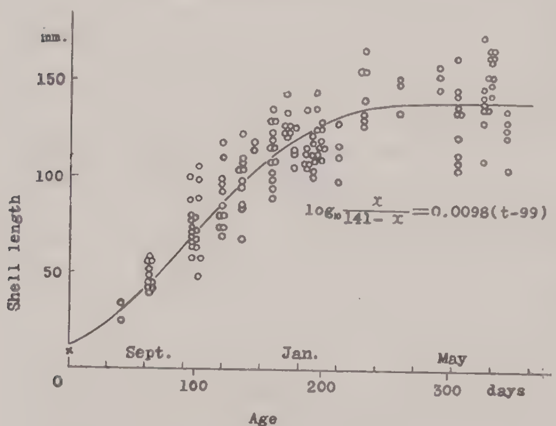


Fig. 1. Growth curve of the shell plotted against the age in days.
x: shell length in mm.
t: age in days, in the equation.
×: average value from 36 hatching individuals.

2) 縞数による方法: Table 1 に示したごとく，同一漁獲群毎の縞数と甲長の変動係数を比較すると，縞数では平均 5.2% であり，甲長では平均 11.1% であつた。従つて縞数は age 形質として甲長よりも優位であると考えられる。故に漁獲月日が不明で 1) の方法が適用できない場合は，甲長よりも縞模様の縞数によつて age を査定する方が適当である。しかし後述するように縞数と age との関係を考慮する必要があるので，この方法は特に相対的に age を比較する場合に好適であると考えられる。

II. age に伴う甲長の伸び

甲長と age との関係をプロットすれば，Fig. 1 の通りである。図に示したごとく両者の関係はほぼ自触一分子反応式すなわちS字状成長曲線式にあてはめることができる。ここでは ROBERTSON[4] に従つて次式の各恒数を求めた。

$$\log_{10}\frac{x}{A-x}=K(t-t_1) \qquad (1)$$

ここに，x は甲長 (mm)，A は甲長極限値，t は age (日令)，t_1 は $x=\frac{1}{2}A$ のときの t，K は成長速度恒数である。

Table 1 および Fig. 1 に示した資料によつて A を推定し，計算によつて次式を得た。

$$\log_{10}\frac{x}{141-x}=0.0098\,(t-99) \qquad (2)$$

この回帰式による計算値と実測値との偏倚度を Q とすれば，

$$Q_2=\pm\sqrt{\frac{\sum n_t(S_t-S_t')^2}{\sum n_t-1}}=\pm 9.4$$

であつた。ここに，S_t，S_t' および n_t はそれぞれ同一漁獲群毎の平均甲長をあらわした実測値とそれに対応する計算値および標本数である。

得られた回帰式によれば，甲長の伸長速度は孵化後約100日，すなわち 10 月上旬で最大となり，そのときの甲長は約 70 mm，また1日の増加量は約 1.5 mm であつた。

III. 縞数と age との関係

縞数と age との関係を Table 1 によつてプロットしたのが Fig. 2 である。これによれば縞数は age に伴つて増加するが，両者の関係は曲線に回帰するものと考えられる。すなわち，孵化後 100 日より 300 日の間では指数型成長曲線によくあてはまり，次式を得た。

$$t=18.4\times 1.03^{y} \qquad (3)$$

ここに，t は age (日令)，y は縞数をあらわす。しかし全成長期間を通してみると，両者の関係は S 字状成長曲線であらわすことが適当であり，つぎの二つの場合が考えられる。すなわち (1) 式を適用して全体を曲線

* 未発表

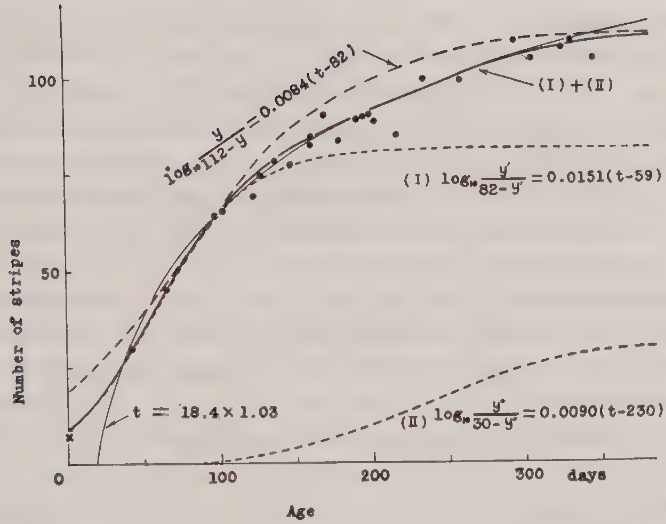


Fig. 2. Increase in the number of stripes with the age in days, showing several equations applied to the result.
y: number of stripes, t: age in days, in the equations.
×: average value from 36 hatching individuals.
●: average value from several individuals of each batch.

式の一サイクルとして扱つた場合はつぎの式を得た。

$$\log_{10}\frac{y}{112-y}=0.0084\,(t-82) \tag{4}$$

また全体を二サイクルとして扱つた場合はつぎのごとくであつた。

$$\left.\begin{aligned}&\log_{10}\frac{y'}{82-y'}=0.0151\,(t-59)\\&\log_{10}\frac{y''}{30-y''}=0.0090\,(t-230)\\&y=y'+y''\end{aligned}\right\} \tag{5}$$

ここに，t は age を，y, y', y'' は縞数を表わす。

得られた (4), (5) 式を比較するならば，一サイクルとみなしたときの (4) 式は age 200 日附近で実測値の 99% 母集団信頼限界を超えた計算値を与え，また計算値と実測値との偏倚度は，それぞれ $Q_4=\pm 8.6$ $Q_5=\pm 3.0$ であつた。従つて (5) 式は (4) 式よりこの場合の回帰式として優位であり，age に伴う縞数の増加曲線は二つのＳ字状曲線の合成として表わすのが最も適当と思われる。

(5) 式によつて縞数と age との関係をみると，８月末より９月始めにかけて縞の増加速度は最大となり，以後増加速度は減少する。本報告で扱つた材料に関しては，縞の増加速度の最大値は１日に約 0.7 本で，またそのときの age は約 60 日，縞数は約 40 であつた。同様に縞の形成周期についてみれば孵化直後で約 2.0 日，最も形成の早いときは約 1.5 日，成長後期には形成が衰えて４月中旬ではその周期は約９日であつた。また全成長期間を通して平均形成周期は約 3.5 日であつた。曲線の第二のサイクルの極大値は age 約 230 日に現われるがあまり顕著ではなかつた。

ところで，同一の材料を用いて導いた二つの式 (5) および (2) による結果で，縞数の増加速度の最大となるのは約 60 日であつたのに対し，甲長の伸長速度の最大となるのは約 100 日であつた。これは縞数の増加と甲長の延びの同一でないことを示しているが，甲の構造からみれば，甲長の伸びは縞の形成速度，縞の疎密および無輪帯長等の要因によつて速度が決まるものであつて，両者の相違はコウイカ甲の構造上の特徴を表わすと考えられる。

以上のごとく縞数と age との関係は直線ではなく曲線に回帰し，縞数はＳ字状曲線に従つて増加することがわかつた。かように縞模様の形成周期が一定ではなく，各成長期によつて変化することは注目すべき事実であると考えられる。一般に生体の硬組織にみられを縞模様は，大部分の無脊椎動物および脊椎動物において，定周期的な増加をするものであり，age との関係は直線を以て表わされるのが普通である。ただ魚類の鱗にみられる circuli の形成周期は一定でないことが知られており，これは温度および栄養状態の影響によるとされている[5]。コウイカの場合も，縞模様の形成様式がかように特徴づけられていることは興味あることと考えられよう。APPELLÖF[1] はコウイカ甲の縞模様が一定の周期で形成されるとしたが，これは単なる観察による推定であつて適当ではないと考えられる。

また縞模様の増加曲線が顕著ではないが二つのサイクルのＳ字状曲線から成り立つていたことも興味あることである。従来[4),6),7]，多くの哺乳類および鳥類などにおいて，age に対する体重の増加曲線は２乃至３サイクルのＳ字状曲線から成り立つていることが知られている。しかし，本報告のように硬組織の縞模様においてかようなことは未だ知られていないことである。前述したごとく，コウイカでは縞模様の形成周期が一定ではなく，また温度等環境要因の影響によつて変化するものであるから*，何らかの新たな要因の支配によつて，第二のサイクルを現わしたという可能性も考えられよう。しかし，これらについてはなお将来の研究にまたねばならない。

IV. 縞数の増加に伴う甲長の伸び

1) 周年的調査資料を用いた方法: すでに縞数は age 形質として信頼性の比較的高い形質であることを述べた。そこで age の代りに縞数を基準として甲の成長曲線を求めることを試みた。

148個体の標本を縞数５本毎の区画によつて階級化し，それによつて甲長資料を示したのが Table 2 である。これによれば変動係数は平均 11.6% であつて，すでに示した age を基準としたときの甲長の変動係数 (Table 1) とほぼ等しいが，成長早期では小さい値であつた。従つて甲長の成長曲線を追跡する場合の基準として，縞数は適当なものであると考えられる。

縞数の増加に伴う甲長の伸びを表わしたのが Fig. 3 である。両者の関係はＳ字状成長曲線にあてはめるのが最も適当

Table 2. Shell length classified by the number of stripes.

No. of stripes**	No. of specimens	Shell length: Range (mm)		Average (mm)	C.V.*** (%)
30	2	25	34	29.45	21.6
35	..	..		..	..
40	..	..		..	..
45	8	43	56	47.88	8.4
50	3	47	56	53.13	10.0
55	..	..		..	..
60	5	73	79	70.76	10.8
65	11	58	99	74.28	16.6
70	9	73	98	81.47	10.8
75	7	86	108	95.90	9.7
80	12	94	122	105.48	8.8
85	23	103	136	116.27	7.7
90	17	100	143	116.94	9.1
95	10	116	143	128.60	6.9
100	9	104	165	136.44	14.3
105	13	108	162	138.92	12.3
110	15	121	166	146.13	9.4
115	3	121	173	146.67	17.7
120	1	..		162	..

** Each value represents two stripes before and behind.
***The average is 11.61.
C.V.: Coefficient of variation.

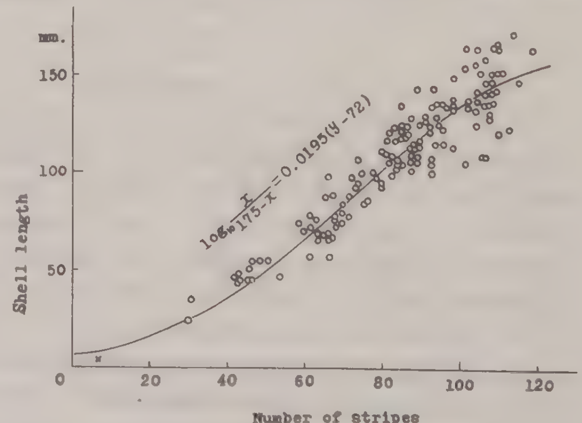


Fig. 3. Growth curve of the shell length plotted against the number of stripes.
x: shell length in mm, y: number of stripes, in the equation.
×: average value from 36 hatching individuals.

* 八木貞二: 昭和 34 年，日本水産学会春期大会において発表。

と思われ，(1) 式によつてつぎの回帰式を得た。

$$\log_{10} \frac{x}{175 - x} = 0.0195\,(y - 72) \qquad (6)$$

ここに，x は甲長 (mm)，y は縞数を表わす。これによれば甲長増加速度の最大となるときは縞数 72 であつた。安田[2] によれば縞数は甲長に正比例して増加するとだけ簡単に述べられているが，図からも明らかなように両者の関係を直線で表わすことは適当ではないと思われる。また図により甲長の極限値を 175 mm としたが，この値は age との関係より導いた 141 mm (Fig. 1) と比較してかなり大である。これは age と直線関係にない縞数を横軸にとつたために，曲線は Fig. 1 に比して直線に近い形に変形されたからである。従つて甲長と age との関係を表わす (2) 式とここに得られた (6) 式とを同基準で比較することのできないのは当然である。しかし，この甲長と縞数との関係は age 資料を用いていないので，つぎのごとき便法によつても求めることができ，甲の成長曲線として特に有用な表現法であると考えられる。

2) 同一個体から得られる資料を用いる方法： 1) の方法は周年的調査の資料を必要とするものであるから，多くの標本群について甲の成長曲線を比較する場合の調査は必ずしも容易ではない。従つて周年的調査によらず，一時期の比較的少数の標本のみで全成長期間の甲の成長を追跡し得る方法があれば有利であると考えられる。そこで成長後期の個体の甲を用いて，その甲内に埋没している縞模様から過去の成長経過を追跡することを試みた。

まず，コウイカ甲は形成後に形態上の変化を起すものであつてはならないので，その点を確めた。すなわち同一産地の標本において，幼若個体の縞の間隔は成体のそれに相当する部分の縞の間隔と差が見出せなかつたこと，age の異る個体から，つぎに述べる方法で得られた縞と甲長との関係を表わす曲線は対応する部分で重なり合うことなどを確認し，甲は第二次的成長または吸収などによつて形成後に形態上の変化をすることはないと考えた。

同一個体に記録された甲長と縞数との関係を求めるためには，前報[8] で述べた過去の室率を追跡する場合と同様に，甲の正中縦断標本を作り，断面に見られる縞模様について，後端の棘基部にある最初の縞より数えて 10 本目毎に，その層の形成されたときの甲の長さを前述の甲長測定の方法と同様に測定した。これによつて得られた資料から各個体の甲長の伸びを，縞数を基準として追跡することが可能であり，(6) 式によつて表わされる曲線と同型の成長曲線が得られた。いま，11月より翌年5月に至る間に漁獲された縞数 83～113 を有する任意の6個体を選んで，さきに周年的資料より求めた成長曲線と比較した。6個体は全標本の成長曲線 (Fig. 3) からの甲長偏差が曲線の両側にほぼ等分に分布するように選んだものである。これによつて求められた各個体の成長曲線を平均すれば，(6) 式とかなり高い一致性がみられ，偏倚度は ±2.9 であつた。従つてこの方法は縞数を基準とした甲の成長曲線を求める手段として有効であつて，しかも周年的資料を用いることなしに成長後期の少数個体のみで目的を達し得るので極めて便宜な方法であると考えられる。

またさらに，前報で述べた成長に伴う室率の変化様式の比較と同様に，この方法によつて得られる甲の成長様式の比較は種族判定上有意義であると考えられる。

要　　約

ほぼ周年にわたつて得られた東京湾産コウイカ 184 個体を用いて，甲長および甲にみられる縞模様の成長を追跡した。

1) コウイカの age は群全体の孵化月日を推定して，漁獲月日までの経過日数で表わすことができる。また甲を用いて age を査定する場合は，縞数が甲長よりも age 形質として優れていると考えられる。

2) 甲長の伸びは age を基準として表わすと，つぎのS字状成長曲線にあてはめることができた。

$$\log_{10} \frac{x}{A - x} = K(t - t_1)$$

(x は甲長 (mm)，t は age (日令)，A，K，t_1 はそれぞれ恒数を表わす)。

それによれば，甲長速度が最大となるのは 10 月上旬であつた。

3) 縞模様は age に伴つて縞数を増し，age を基準とすれば二つの合成されたS字状成長曲線が最もよく適合した。すなわち縞の形成速度および周期は一定ではなく，各成長期によつて変化するものである。また縞の形成速度の最も大となる時は8月末から9月初めで，そのときの形成周期は約1.5日，また全成長期間の平均は約 3.5 日であつた。

4) 甲長の延びを縞数を基準として表わせばS字状曲線で表わされ，伸長速度の最大となるときの縞数は72であつた。この関係は周年的調査によらなくても，成長後期の標本のみで，甲の正中縦断面から求められる。従つてこの成長曲線は種族等の比較上有用であると考えられる。

終りに御指導御助言を賜わつた東京大学末広恭雄教授，東京医科歯科大学岡田正弘教授並びに東京大学日比谷京助教授に厚く感謝の意を表するとともに，材料の入手および飼育に御援助を頂いた東京水産大学木更津実習場片田実助教授，杉浦靖夫氏並びに標本を提供して下さつた東京大学岩井英次氏に併せて厚く感謝します。

文　　　献

1) Appellöf, A.: Kongl. Svenska Vet. Akad. Handl., **25**, 7, 1～50 (1893).
2) 安田治三郎: 本誌, **16**, 350～356 (1951).
3) 山本孝治: 植物及動物, **10**, 123～130 (1942).
4) Robertson, T. B.: The Chemical Basis of Growth and Senescence. Philadelphia, (1922).
5) 檜山義夫: 水産学会報, **8**, 105～115 (1940).
6) Brody, S.: Jour. Gen. Physiol., **3**, 623～633 (1921).
7) ――――: Jour. Gen. Physiol., **3**, 765～770 (1921).
8) 八木貞二: 本誌, **26**, 640～645 (1960).

THE TYPES OF FOOD HABITS OF FISHES ASSURED BY STOMACH CONTENTS EXAMINATION

Fujio YASUDA*

(Received April 16, 1960)

1. Introduction

The stomach contents survey of the fishes is an indispensable research method to investigate the feeding habits, the living area of fishes and also the ecological and physiological relation between each species.

The research method must differ according to its purpose, but generally the survey begins from the classification of the food organisms in the stomach contents of fishes, and then extends to the quantitative analysis such as the weight of food, the volume of food and the digestive degree of food.

The qualitative analysis of the stomach contents has been done by many workers notably, Lebour (1919, 1920), Suyehiro (1942) and the others, and recently the quantitative analysis has been done relatively by many workers notably, Shorygin (1939), Hess and Schwartz (1940), Aoyama (1956), Yokota (1956) and the others.

Here, the author is going to report the results of examination of stomach contents of 73 species of fishes which were caught mainly at the coastal area of Kanagawa Prefecture of Japan by set net, boat seine and " shirasu biki " (one of the boat seines which catch the larval fish, particularly sardine species) during 1957 to 1958.

The stomach contents of almost every individual fish of all the species obtained were examined qualitatively. Among them of the species the number of individuals was so sufficient that, the author examined quantitatively to see the individual variation.

From these results, the author could know some remarkable tendency of the variation of the stomach contents of these fishes.

The author wishes to express his thanks to Prof. Yoshio HIYAMA for his guidance.

2. Materials and Methods

The material fishes were 73 species of coastal fishes caught at Moroiso, Koajiro and Kamakura, Kanagawa Prefecture, by set net, boat seine and " shirasu biki " during 1957 to 1958.

The results of identification of the stomach contents were shown in Table 1. These fishes were put into the 10% formalin solution just after they were caught. And the body weight, the wet weight of stomach contents were measured besides the

* Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, University of Tokyo.

Table 1. Qualitative analysis of the stomach contents.

	Range of B.L. (cm)	Fish Muscle	Cephalopoda	Shrimp	Crab	Annelida	Shell	Euphausia	Mysidacea	Other Crustacea	Megalopa	Amphipoda	Ostracoda	Polychaeta	Isopoda	Phyllopoda	Copepoda	Jelly-fish-larva	Fish-larva	Bivalve shelled larva	Gastropoda shelled larva	Sagitta	Thaliacea	Figh-egg	Sea-weeds	Phytoplankton
1. *Etrumeus micropus*	7-12								*		*					*	*									*
2. *Sardinops melanosticta*	3-21												*			*	*	*	*	*		*		*		*
3. *Harengula zunasi*	11								*				*			*	*									*
4. *Engraulis japonica*	2-13								*		*	*	*			*	*			*	*	*		*		*
5. *Plotosus angillaris*	2-18	*							*								*									
6. *Asteroconger myriaster*	28					*																				
7. *Cololabis saira*	2-31							*					*				*						*			*
8. *Aulichthys japonicus*	9-11											*					*									
9. *Fistularia villosa*	12-40	*							*								*									
10. *Syngnathus schlegeli*	8-17																*									
11. *Hipocampus coronatus*	4- 8																*									
12. *Zeus japonicus*	18	*																								
13. *Allanetta bleekeri*	8-11															*	*			*						
14. *Mugil cephalus*	15																*				*					
15. *Sphyraena pinguis*	3-21	*							*	*							*									
16. *Scomber japonicus*	2-31	*	*	*					*		*	*					*	*				*		*		
17. *Trachurus japonicus*	2-26	*	*									*	*			*	*		*	*		*		*		
18. *Caranx delicatissimus*	10-14								*																	
19. *Seriola quinqueradiata*	2-18	*															*									
20. *Chornemus orientalis*	4	*															*									
21. *Leiognathus nuchalis*	3- 6																*									
22. *Parapriacanthus beryciformes*	4- 6								*				*				*									
23. *Oplegnathus fasciatus*	2-11			*		*	*				*	*					*									*
24. *Upeneus bensasi*	4-17								*			*	*			*	*									*
25. *Apogon niger*	6- 8								*																	
26. *A. lineatus*	1- 7																*							*		
27. *A. semilineatus*	6- 9	*							*								*									
28. *Acropoma japonicum*	6															*	*									
29. *Scombrops boops*	2-16	*							*								*									
30. *Lateolabrax japonicus*	15-24	*																								
31. *Sillago sihama*	1- 7	*		*		*			*			*	*	*	*		*			*				*		
32. *Girella punctata*	2-16					*			*			*				*	*								*	*
33. *Evynnis japonica*	1																*									
34. *Mylio macrocephalus*	2-16	*		*								*					*								*	*
35. *Chrysophrys major*	1			*		*			*								*									
36. *Parapristipoma trilineatus*	1- 2								*								*			*						
37. *Gonistius zonatus*	17				*																					
38. *Ammodytes personatus*	1- 2																*									
39. *Pholis pictus*	9									*																
40. *Acanthogobius flabimanus*	9-13					*				*		*														
41. *Pterogobius zonoleucus*	3- 5												*			*	*									
42. *P. elapoides*	1- 5												*				*									
43. *Chasmichthys dolichognathus*	1- 2																*									
44. *Sagamia genionema*	2- 7			*						*		*					*			*						
45. *Leucopsarion petersi*	2- 3			*						*		*					*									
46. *Ditrema temmincki*	6-15			*		*			*	*		*	*			*	*				*					

(to be continued)

Table 1. Qualitative analysis of the stomach contents. (continued)

	Range of B.L. (cm)	Fish Muscle	Cephalopoda	Shrimp	Crab	Annelida	Shell	Euphausia	Mysidacea	Other Crustacea	Megalopa	Amphipoda	Ostracoda	Polychaeta	Isopoda	Phyllopoda	Copepoda	Jelly-fish-larva	Fish-larva	Bivalve shelled larva	Gastropoda shelled larva	Sagitta	Thaliacea	Fish-egg	Sea-weeds	Phytoplankton
47. *Chromis notatus*	2																*									
48. *Halichoeres poecilopterus*	10					*																				
49. *Duymaeria flagellifera*	12						*																			
50. *Hepatus elegans*	3																*									
51. *Prionurus microlepidotus*	17						*																			
52. *Stephanolepis cirrhifer*	3–13	*		*			*					*													*	
53. *S. japonicus*	5																*									
54. *Rudarius ercodes*	2– 5											*					*			*					*	*
55. *Ostracion tuberculatus*	10											*														
56. *Lactoria cornutus*	4																*									
57. *Canthigaster rivulatus*	8					*	*																			
58. *Fugu niphobles*	3–11	*							*	*		*				*	*			*						
59. *F. pardalis*	7–15			*		*	*														*					
60. *Sebastes inermis*	7– 9	*		*																						
61. *Sebastiscus marmoratus*	20	*																								
62. *Apistus carinatus*	8				*																					
63. *Hypodites rubripinnis*	5– 7			*		*			*		*	*	*													
64. *Hexagrammos otaki*	19					*																				
65. *Cociela crocodila*	15–33	*			*																					
66. *Platycephalus indicus*	11			*																						
67. *Pseudoblennius percoides*	6– 9	*																								
68. *P. cottoides*	3–10	*							*																	
69. *Vellitor cetropomus*	6–10								*								*									
70. *Chelidonichthys kumu*	13–14	*		*																						
71. *Dactyloptena orientalis*	4																*									
72. *Pseudorhombus cinnamoneus*	5– 6						*																			
73. *Zebrias zebra*	18					*	*																			

identification of the food organisms. The numerous organisms found in the stomachs were classified into the following five large groups in Table 2.

1. Fish. 2. Bottom livings. 3. Large plankton 4. Small plankton 5. Inactive organisms.

Then the percentage in Table 2 were obtained by the following formula:—

$$\frac{\text{Number of fish feeding on a particular food organisms}}{\text{Number of surveyed fishes}} \times 100$$

Further, the stomach contents were measured quantitatively about 35 species of fishes of them, because the number of fish was enough to do so.

3. The classification of food habits

The qualitative results of the stomach contents of 73 species of the fishes were shown in Table 1. And Table 2 shows the percentage of the occurrence of food

Table 2. Quantitative analysis of the stomach contents.

			1		2				3					4							5						
		Range of B.L. (cm)	Fish Muscle	Cephalopoda	Shrimp	Crab	Annelida	Shell	Euphausia	Mysidacea	Other Crustacea	Megalopa	Amphipoda	Ostracoda	Polychaeta	Isopoda	Phyllopoda	Copepoda	Jelly-fish-larva	Fish-larva	Bivalve shelled larva	Gastropoda shelled larva	Sagitta	Thaliacea	Fish-egg	Sea-weeds	Phytoplankton
(A) Piscivorous fish	1. *Sphyraene pinguis*	6–21	73							27	3							1									
		3– 5	50							66								3									
	2. *Scombrops boops*	6–16	55							21								5									
		2– 5	22							89																	
	3. *Seriola quinqueradiata*	6–18	50																								
		2– 5	30															67									
	4. *Fistularia villosa*	12–40	50							28								6									
	5. *Pseudoblennius cottoides*	8–10	75							25																	
	6. *Sebastes inermis*	8– 9	67		33																						
(B) Omnivorous fish	7. *Mylio macrocephalus*	6–19											19					14								5	
		2– 5	25		25													25									50
	8. *Oplegnathus fasciatus*	6–12					13	7					13														
		2– 5			10							20						50									10
	9. *Girella punctata*	6–16					18			9			9					73								73	21
		2– 5					7						7				7	50								57	7
	10. *Stephanolepis cirrhifer*	6–13	9					46					18													55	
		4–·5	33		33																						
	11. *Scomber japonicus*	6–31	33	2	2					33		6	1						6				4				
		2– 5	75							13		6						3					6		10		
(C) Carnivorous fish	12. *Fugu niphobles*	6–12	60								10										5						
		3– 5	25							19	13		19				50	19									
	13. *Sillago sihama*	6–15			3		62			7			3		7	3									3		
		1– 5	6							50				11				33			6						
	14. *Ditrema temmincki*	6–14			4		6			4	15		58	6			4	35				8					
	15. *Chrysophrys major*	7–11			25		17			25								8									
	16. *Fugu pardalis*	7–15			17		17	17														67					
	17. *Hypodites rubripinnis*	6– 8			25		10			13		13	13														
		5			27		18					18	18	9													
	18. *Acanthogobius flabimanus*	9–14					27						9														
(D) Plankton feeder	19. *Etrumeus micropus*	7–12	-							29		3					32	42									3
	20. *Apogon semilineatus*	6– 9	5							63								11									
	21. *Parapriacanthus beryciformes*	6								100				100													
		5								56				22				67									
	22. *Caranx delicatissimus*	10–12								75																	
	23. *Sagamia genionema*	6– 7			14								14					57									
		2– 5									6							61			6						
	24. *Vellitor cetropomus*	6–11								50								13									
	25. *Trachurus japonicus*	6–26	23	8									4	8			2	2			8		6		13		
		2– 5																62		52	22		4				
	26. *Allanetta bleekeri*	8–11															7	27			7						
	27. *Apogon lineatus*	6– 7																							100		
		1– 5																100									
	28. *Pterogobius zonoleucus*	3– 5												16			5	84									
	29. *Aulichthys japonicus*	9–11											6					67									
	30. *Leiognathus nuchalis*	3– 5																100									
	31. *Rudarius ercodes*	2– 5											8					41			2					10	65
	32. *Cololabis saira*	6–31							15					5				82						14			22
		2– 5																50									
	33. *Engraulis japonica*	6–13								2		4	8	12			21	75			2	6	13		4		58
		2– 5															44	83			57	4	4				100
	34. *Sardinops melanosticta*	6–21												39			43	90	2	2	5		4		36		63
		3– 5												76			81	95		5	10				10		43
	35. *Upeneus bensasi*	6								36			7	57			7	57									7
		4– 5								20			20	80				100									

organisms in the fish stomach examined, which can tell the tendency of the selection of food organisms. From these tables the author thinks that these fishes can reasonably be classified into the next four groups:—(A)—fishes feeding on fishes, namely piscivorous fish. (B)—fishes feeding on other animals, namely carnivorous fish. (C)—fishes feeding on almost every food organisms of many food ranks, namely omnivorous fish. (D)—fishes feeding on planktons, namely plankton feeders. This classification was shown in Table 2.

However, this grouping method is not considering the variation of food habit caused by the growing state of fish, by season and by locality of inhabitation, as it only shows the general habits according to the stomach contents. Therefore, sometimes the food habit of some piscivorous fishes is near to that of carnivorous or omnivorous in their young stages, and also that of some carnivorous fish is near to that of planktonic in their young stage.

(A) Piscivorous fish or fish eater.

The six species were listed as piscivorous (A) in Table 2. These fishes preferably fed on the food which were listed for the 1st column in Table 2. However, these fishes sometimes show the carnivorous food habit in their young stage. Furthermore it is possible to divide this group into two based on the difference of the habits of prey.

1. The first subgroup feeds on the surface and middle layer inhabitants:—Big eye, *Scombrops boops*, red barracuda, *Sphyraena pinguis*, yellow-tail, *Seriola quinqueradiata* and "aoyagara", *Fistularia villosa* belong to this subgroup.
2. The second subgroup is bottom fish eater:—"Asahi-anahaze", *Pseudoblennius cottoides* and "mebaru", *Sebastes inermis*, belong to this group.

On the other hand, as far as the fishes caught in this coastal area and examined, as the prey species were simple in this case, the two subgroup above mentioned can also be grouped as follows.

1. Sardine predator:—Red barracuda, big eye and yellow-tail.
2. Goby predator:—"Aoyagara", "asahi-anahaze" and "mebaru".

Here, the author could find that the seasonal variation of the food habits is not more notable than the variation by the growth of fishes, as deducted from the results of the stomach contents survey of red barracuda, big eye, yellow-tail and "aoyagara".

(B) Omnivorous fish.

The five fishes were listed as omnivorous (B) in Table 2. These fishes belong to the gluttonous fish group, generally live in rocky coast or in coral reef and naturally fed on almost every food organisms of all ranks in this table. The stomach contents of mackerel, *Scomber janonicus*, are more according to the food organisms listed in the 3rd column than those of the 2nd column, and also includes those of the 4th and 5th columns during their young and immature stages.

Based upon this fact, the author classifies mackerel under this group, but the food

habits of this species clearly shows piscivorous or carnivorous food habits in their adult stage. Therefore it is possible to classify this species either as (A) or (C).

These results quite agree with the stomach contents survey which was already reported by Yasuda and Hiyama.[9)-12)]

(C) Carnivorous fish.

The seven fishes were listed as carnivorous (C) in Table 2. As they naturally fed on the animal food which, mainly benthos, were listed under the 2nd column of this table through a year. From the habits of these preys, it is possible to conjecture the habits of these predator.

In this group, puffer, *Fugu niphobles*, fed on fishes abundantly, so it is close to that of piscivorous fish. However, they only consume the dead or damaged fish which sticks to the mesh of the set net, and when the author examined the stomach contents of fishes which were caught by the boat seine, it is not often found to have fishes inside of their stomach.

Thus the author does not put puffer in the group of correct piscivorous fish.

(D) Plankton feeders.

The 17 species were listed as plankton feeders (D) in Table 2. As they naturally fed on small planktonic organisms throughout their lives. Furthermore, this group can be classified into the many subgroups, such as benthos feeders group, surface and middle layer plankton feeders group and so on.

On the other hand, this group can be divided into subgroups, such as macroplankton feeders and microplankton feeders. The most important food organisms of this group are copepoda and mysidacea as listed under the 3rd and 4th columns of Table 2, respectively.

The horse mackerel, *Trachurus japonicus*, often fed on the fishes, but they only consume the larvae or young fish in their adult stage, so the author could not consider that these young fishes were not so important food for the horse marckerel, therefore horse mackerel could be classified into any group.

4. Amount of food eaten and its type

The quantitative analysis of the stomach contents has been examined by many workers notably, Aoyama (1956), Yokota (1956) and the others, and there are two methods to indicate the amount of food eaten. The one is the weight percentage of the stomach contents and the other is the classification of volume of stomach contents by inspection.

The method which is indicated by the weight percentage of the stomach contents is generally used the stomach contents capacity or the wet weight of stomach contents.

The variety of the indication of the amount of food eaten in stomach by many authors are listed here by the following formulae.

$\frac{U}{L^3} \times 10^n$	(1)	Aoyama
$\frac{S.C.W.}{L^3} \times 10^n$	(2)	Aoyama
$\frac{S.C.W.}{B.W.} \times 100$	(3)	Aoyama
$S.C.W. \Big/ \frac{B.W.}{L^3} \times 100$	(4)	Chiba
$\frac{S.C.W.}{B.W.-G.W.-S.C.W.} \times 100$	(5)	
$\frac{S.C.W.}{B.W.}$	(3′)	Yokota

Note:—U—Stomach contents capacity. S.C.W.—Stomach contents weight. G.W.—Gonad weight. B.W.—Body weight. L.—Body length.

And Aoyama's method, one of the methods which are indicated by inspection of stomach contents, was used generally. The stomach contents are classified into the four types by above analytical method.

1. Well fed stomach—The stomach are well expanded.
2. Fed stomach—It is not well fed but surely fed on a little.
3. Empty stomach.
4. The stomach turned inside out.

But some worker went into more details by going into minute division in some cases.

In the analysis of the stomach contents the author used (3′) formula mentioned above.

About many individuals of several species of fish, the index of the amount of food eaten was obtained by the formula (3′) as shown in (Figs. 1–3 and Table 3).

As shown in Figures 1–3, the index of food eaten is generally big in young stage and small in older stage. The feature of the variation of the index differs according to the fishes, possibly caused by feeding habits of fish. There are three types of variation as follow.

A—The index is notably big in their young stage, but it decreases rapidly in the older stage, as shown in Figure 1. All plankton feeders belong to this type.

B—The index is notably big in their young stage, but it decreases linearly according to the growth of fish, as shown in Figure 2. All omnivorous fish and some carnivorous fish belong to this type.

C—The index is notably big in their young stage, but it does not decrease clear-

ly even in the older stage, and the range of variation is so great that it shows no correlation between these indexes and body weight, as shown in Figure 3. Carnivorous fish and especially piscivorous fish belong to this type.

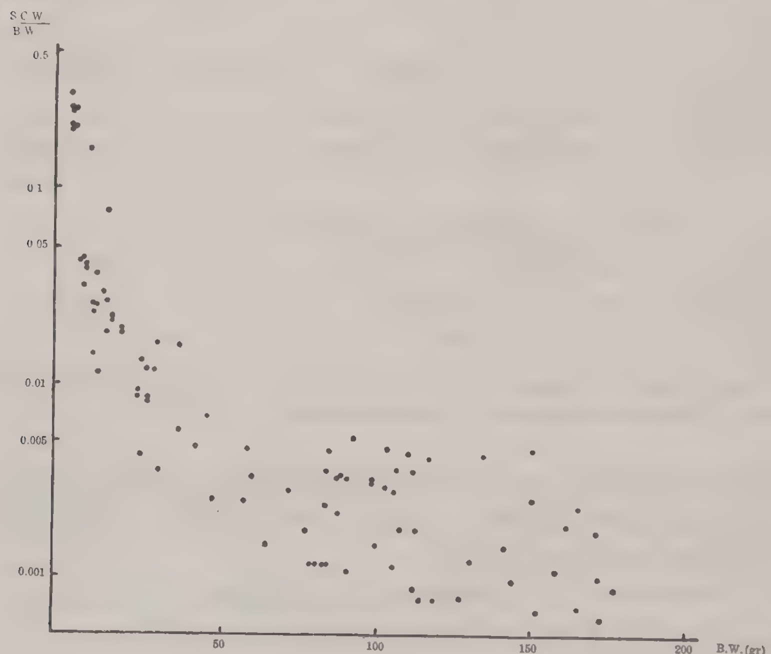


Fig. 1. The relation between the index of amount of food eaten and body weight, *Cololabis saira* (A type)

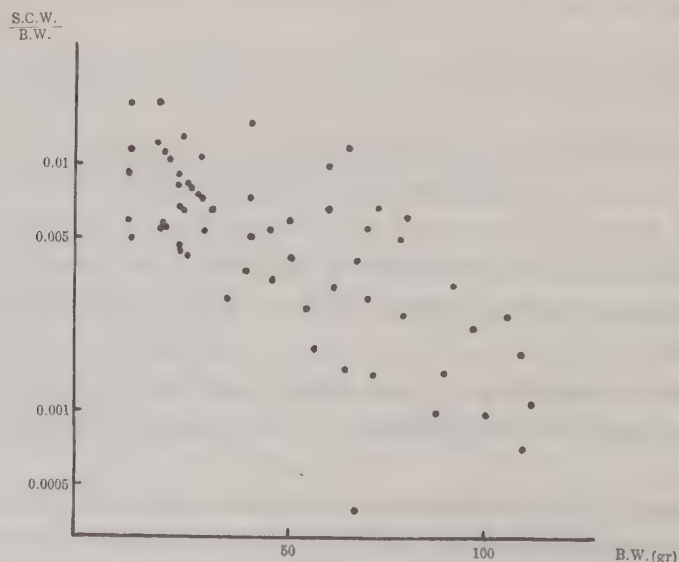


Fig. 2. The relation between the index of amount of food eaten and body weight, *Ditrema temmincki* (B type).

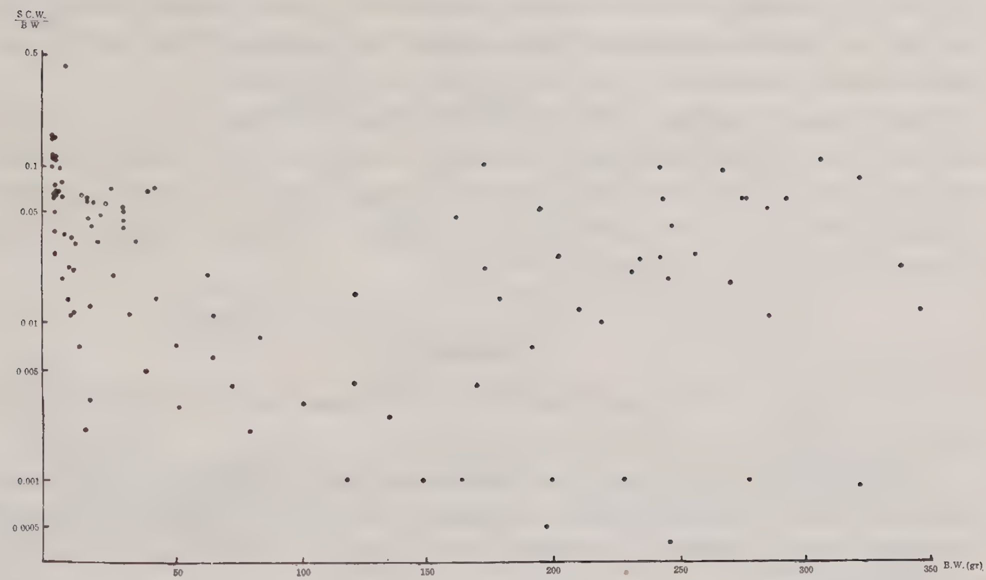


Fig. 3. The relation between the index of amount of food eaten and body weight, *Scomber japonicus*, (C type).

Table 3. The types of amount of food eaten by several fishes.

No.	Food habits	Species	Type
1	Plankton feeders	*Sardinops melanosticta*	A
2	〃	*Cololabis saira*	A
3	〃	*Engraulis japonicus*	A
4	〃	*Trachurus japonicus*	A
5	Omnivorous fish	*Girella punctata*	B
6	〃	*Scomber japonicus*	C
7	Carnivorous fish	*Shillago sihama*	B
8	〃	*Ditrema temmincki*	B
9	Piscivorous fish	*Scombrops boops*	C
10	〃	*Sphyraena pinguis*	C
11	〃	*Seriola quinqueradiata*	C

From the pattern of distribution of the index in these graphs, the author can conjecture the feeding habits of fishes. That is the high food order fishes such as C type takes large amount of food at once, when they can encounter their food organisms, because the existence of the food organisms of high food order predator is not abundant than that of plankton feeders, therefore the indexes are widely distributed in this type.

On the contrary in the case of the young stage of these fishes and plankton feeders the indexes are not widely distributed and decrease almost similarly. This

was possibly caused by the fact that the food habits of young stage of both carnivorous fish and plankton feeders are almost similar, and the supply of the food of these fishes is more continuous than that of the high food order fishes.

Besides these, the author noticed the fact that the occurrences of empty stomach of the adult B and C types fishes were higher than their young stage or plankton feeders. This fact would also affect the above mentioned relationship. The author considers by these evidences that the quality and the quantity of the prey animals are very important factors for the predators.

5. Summary

1. The surveyed fishes were classified into four groups, and the piscivorous group was also divided into the particular feeding group.

2. The amounts of food eaten by these fishes were classified into three, A, B and C types, such as plankton feeders, omnivorous and some carnivorous fishes and carnivorous fishes especially piscivorous fishes, and each feeding group belongs to different types.

3. The rate of occurrence of empty stomach is high in the adult fishes and also high in the high food order fishes.

References

1. M. V. Lebour: The food of young clupeoides, *J.M.B.A.* **3**, 12 (1921).
2. M. V. Lebour: The food of young fishes, *J.M.B.A.*, **2**, 12 (1920).
3. Y. Suyehiro: A study on the digestive system and feeding habits of fishes, *Jap. Jour. Zool.* **10** (1), (1942).
4. A. A. Shorygin: Food and food preference of some gobiidae of the Caspian Sea, *Zool. Zhurnal*, **1**, 18 (1939).
5. A. D. Hess and Schwartz: The forage ratio and its use in determining the food grade of stream, *Proc. 5th North, Amer. Wildlife Conf.*, pp. 162–164 (1940).
6. T. Aoyama: Concerning the survey of food habits, especially the survey of food habits of benthos fishes which were caught at Yellow Sea and East China Sea (1956). (in Japanese, Materials.)
7. T. Yokota: The construction of fish community at Nankai Regional Area from the view-point of their food habits (1956). (in Japanese, Materials.)
8. T. Chiba: Studies on the development and systematics of copepoda, *Jour. Shimonoseki Coll. Fish.* **6** (1), (1956).
9. F. Yasuda and Y. Hiyama: Mechanism of utilization of plankton by some fishes, *Rec. Oceanogr. Works Jap.* **3** (1), (1957).
10. Y. Hiyama and F. Yasuda: Productivity of plankton feeders in the off-shore area of Japan, *Rec. Oceanogr. Works Jap.* **4** (2), (1958).
11. F. Yasuda and Y. Hiyama: A measure of role of utilization of plankton feeders by carnivorous fish in the certain area, *Rec. Oceanogr. Works Jap.* **5** (1), (1959).
12. F. Yasuda: The relationship of the gill structure and food habits of some coastal fishes in Japan, *Rec. Oceanogr. Works Jap.* **5** (2), (1960).

海水汚濁の測定について—I.

微生物による汚濁について

諸岡 等

(1960 年 4 月 22 日受理)

DETERMINATION OF SEA WATER POLLUTION—I. POLLUTION CAUSED BY MICRO-ORGANISM.

Hitoshi Morooka*

Even in a sea water that seems to be polluted by the inflow of a water with high B.O.D. and C. O. D. from land but that is actually small in B.O.D. and C O.D., many micro-organisms are still living. If organic substances such as glucose are added in such a sea water, micro-organisms would begin to work again, and if fishes come in such a sea water micro-organisms would grow on fishes. In this circumstances, examinations for micro-organisms are necessary to evaluate the pollution of a sea water. But the examinations for micro-organisms such as identification of species and counting, require special knowledges and techniques. So the author has established a new method for evaluating the pollution of a sea water, that does not require any special technique. Namely, glucose that corresponds to 0.1% of a water sample in amount, is added to the water sample to incubate the micro-organisms in the water sample at a temperature of 30°C for 24 hours, and then the amount of oxygen that is spent in this period, is determined. The amount of oxygen which is determined by this method is defined as B. O. I. (Biological Oxygen Index.)

The avalability of the B.O.I. as an indicator of the pollution of sea water was ascertained by the experiments mentioned below; a) When the B.O.I. value was determined after adding a proper amount of glucose to a water sample, the B. O. I. revealed a constant value in no relation with the B. O. D. and the amount of glucose which is added. Therefore, B. O. I. can be considered as a factor that indicated the pollution of a sea water in no relation with the B. O. D. and C. O. D. Since the decreasing rate of oxygen showed no changes as time passed, a sample relationship between the number of micro-organisms and the B. O. I. was assumed. However, it is assumed that there are some relationships only in the same kind of polluted sea water.

生物化学的酸素要求量 (Biochemical oxygen demand 以下 B.O.D. という) や化学的酸素要求量 (Chemical oxygen demand 以下 C. O. D. という) は有機物による汚濁を判定するのに重要な事項であるが，海水の場合に得られる数値は淡水の場合のそれに比べて遙かに小さなものであり[1]， これを測るには別の基準や方法が要求されている。B. O. D. や C. O. D. が小さいということは海水中に微生物が利用できる有機物が少ないことを意味するものであろうが，このような状態の時に今まで有機物とともにあつた微生物までもが無くなるとは考えられない。通常有機物を含んだ水は海に入ると稀釈されるために有機物の分解が進むこともあり，または凝固によつて微生物の利用できる可溶性成分が減つたり，あるいは有機物を溶解して微生物の細胞膜を通過しやすくさせる酵素の作用が海水中の塩分のために阻止されることも起るであろうが，その流入によつて微生物までもが分解し減るとは思われない。すなわち微生物は稀釈されてもまだもとのま

* 長崎県水産試験場 (Nagasaki Pref. Fish. Exper. St., Nagasaki).

ま残つているはずだと考えられるのである。このように微生物が数多く残つている水域に可溶性有機栄養物が加わるようなことがあれば，微生物の活動が再びはじまりその結果その水域の溶存酸素が消費されるであろうし，あるいはその水域に魚族が来れば微生物はこれに付着し繁殖してそのために被害を生ずることであろう。

このように微生物が多い水域は魚族に対し間接あるいは直接の被害をもたらすものである。筆者はこの見解に基づき有機廃水による海水汚濁の調査には，B. O. D. や C. O. D. 以外に微生物に関する調査も加えるのでなければならないと考えたのである。微生物の調査の際には従来種の同定，あるいはその数を調べることが必らず行なわれているが，そのためには特別な専門的知識が必要であり，一般には行ない難いことである。それゆえ筆者は微生物による汚濁を取り扱う際に問題になるのは，取り扱つている環境下での生物群の作用であるから，これを種の問題とかあるいは個々の種の作用の問題に分けて考えることをしないで，専門的な技術を持たない者にも取り扱えるようにつぎの方法を考えた。

この方法の根拠となる考え方は前にも述べたように，微生物が多い汚濁水域に微生物の栄養となる有機物を加えると，その生活力によつて該水域の溶存酸素が失なわれることにある。すなわち水中には 10 p. p. m. 程度の酸素が溶けているに過ぎないのであるから極く少量の葡萄糖を添加すれば，水中の微生物の作用で葡萄糖が消費される時に酸素も同時に失なわれてしまう。それゆえ少量の葡萄糖を加えた試水を一定条件の下で一定時間培養してその間の酸素の減り方を測る。かようにして得られる酸素の減量をその微生物群の生活力によるものと考えるのである。

この方法を実施するために必要な器具薬品は水中溶存酸素測定に必要なもの一式と葡萄糖である。試水を入れてこれを振盪できる充分の容量を持つた細口試薬瓶に試水を入れ更に 0.1% に当る葡萄糖を添加し，よく振盪して溶解と空気との飽和を同一操作によつて行なわしめる。ついでこれを酸素瓶に充塡し 30°C の暗所において 24 時間培養をする。培養前後に測つた水中溶存酸素量からその差を計算し，酸素の消費量を求める。これを微生物による汚濁度と考えるのである。この値は水中の有機物が微生物によつて分解する時の酸素消費量に相応するもので， B. O. D. 測定の場合にもこれと似た方法が採られている。 B. O. D. 測定の場合は測定しようとする有機物に比べて微生物が充分にあり，その間の作用を支配するものが有機物の量である。これに反し筆者の試みる方法では有機物は微生物に比べて潤沢にあり，微生物の作用すなわち生活力は制限されることなく充分に発揮されるであろう。したがつてこの結果は微生物の作用を種や量に分けないでむしろ綜合的な作用によつてあらわせられたものと考えるのである。

かくして得られる値を筆者は B. O. D. にならつて B. O. I. (Biological oxygen index 生物的酸素指数) と呼ぶことにした。測定の結果は後述の通りであつて， B. O. D. や C. O. D. にかかわりなく海水の汚濁を概念的に感ずる汚濁の程度と全く一致した傾向であらわすことができた。

実 験 の 部

I. 分 析 法

1. 酸素定量法　　有機廃水が多い環境には一般に亜硝酸が多いのでその影響を除くためにスルフアミン酸を用いる WINKLER 氏改良法[2] を採用した。すなわち酸素を固定する前にスルファミン酸安母 4.7g を 20% 硫酸 100cc に溶かした試薬を試水 100cc に対し 0.5cc 添加しよく振盪して 30 秒間おいた。

2. B. O. D.　　後で述る B. O. I. と比較しやすいようにするためその測定条件に合わせて 30°C で 24 時間培養した。

3. C. O. D.　　佐伯氏[3]の実験方法にしたがつて過満俺酸加里処理をしたが，亜硝酸による沃度滴定の際に起きる誤差を除くために，酸素定量の場合と同じスルファミン酸を用いて沃度の遊離を行なつた。

なお実験に使用した海水は長崎港海水 pH 8.1～8.3, Cl 18.0～18.5‰, 水族館海水 pH 8.0～8.4, Cl 18.5‰ であつた。

II. B.O.I. の測定

1. 葡萄糖を加えることについて　海水に葡萄糖を加えたものは微生物にとつてはよい培養基である。それゆえ微生物が多い海水に葡萄糖を加えるとその生活力のために溶存酸素が消費されることが考えられる。このことを確かめるために長崎港湾奥部の海水を用いて培養試験を行なつた。その結果は Table 1 に示す通りである。この実験で明らかになつたことは対照区に比べて葡萄糖を加えたものの酸素消費が著しく大きいこと，すなわち葡萄糖の添加により微生物の活動が旺盛になつていることである。

Table 1. Oxygen content in water samples that were added with glucose and incubated.

Time hrs.	Sample 1 (Added with 0.1% glucose) p.p.m.	Sample 2 (Added with 0.2% glucose) p.p.m.	Sample 3 (Control) p.p.m.
0	7.2	7.1	7.6
3	6.3	6.2	7.3
6	5.9	5.8	6.9
9	5.2	5.0	6.6
12	4.4	4.4	6.2
15	3.7	3.7	6.1

2. 葡萄糖の添加量について　溶存酸素は主として葡萄糖の酸化に使用されるものであるから，葡萄糖の添加量は

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

$$6O_2 \div C_6H_{12}O_6 = 192 \div 180 \fallingdotseq 1$$

より計算して，溶存酸素と同量あるいはそれより僅かに多ければよい。普通海水中の溶存酸素量は 10p.p.m. 以下であるから，添加する葡萄糖の量もその程度でよいこととなる。1 の場合と同様長崎港内の海水を使用し，種々の量の葡萄糖を添加して培養試験を行なつた。その結果は Table 2 に示す通りである。この実験により試水中の溶存酸素に対し葡萄糖が充分にあれば，微生物の活動は旺盛になりしかもこれが同一の試水である限り葡萄糖の量に関係なく同程度の活性を示すことが明らかになつた。したがつて葡萄糖の添加量は多くを必要とせず適当に少量であつてよい。それゆえ以後の研究では秤量による誤差を少なくし，実験条件を揃えるために葡萄糖の添加量を総て 1,000 p.p.m. 相当量とすることにした。

Table 2. Oxygen content in a water sample that was added with various amounts of glucose and incubated.

Amount of glucose added p.p.m.	Oxygen content before incubation p.p.m.	Oxygen content after incubation p.p.m.
0	7.08	6.68
40	7.28	4.67
80	7.25	4.69
200	7.28	4.70
400	7.21	4.50
800	7.28	4.64
2000	7.21	4.54

3. 試水を水または海水で稀釈することについて　試水に葡萄糖を添加して培養すると，活動力の激しい微生物を含むものでは 24 時間たたないうちに酸素はほとんど消費される。これは水中の溶存酸素は 10 p.p.m. 以下であるのに対し，活性の大きな微生物群が含まれている時はその酸素消費力はこれを上まわるからである。このような時には B.O.D. の大きなものの B.O.D. を測る要領が適用できないかと考えた。すなわち微生物に対し溶存酸素の割合をふやす方法について試験をした。長崎港湾奥部の水Aと，湾口部の水Bを試水とし，これに等量の殺菌蒸溜水あるいは殺菌海水を加えて稀釈し葡萄糖を添加して培養した。その結果は Table 3 に示す通りである。A の方は葡萄糖を添加すると活性が著しく強くなり稀釈をしてもま

Table 3. Oxygen content in water samples that were diluted two times with distilled water or sea water, added with 0.1% glucose and incubated.

Sample	Incubation	No treatment (Control) p.p.m.	Added with 0.1% glucose: No treatment p.p.m.	Added with 0.1% glucose: dil. with dist. water p.p.m.	Added with 0.1% glucose: dil. with sea water p.p.m.
A	Before	7.12	7.11	7.67	6.94
	After	6.63	0.16	0.28	0.12
	Difference	0.49	6.95	7.39	6.82
B	Before	7.20	7.17	7.64	6.75
	After	6.73	5.78	3.35	2.38
	Difference	0.47	1.39	4.29	4.37

だ酸素が足りない。あるいはさらに稀釈をする必要があつたのかも知れない。Bの方は葡萄糖添加だけの処理のものに培養後まだ多量の酸素が残つていた。この場合は本来なら稀釈の必要はないのであるが，稀釈の実験を行なつたために予期していなかつた結果が現われた。すなわち試水を2倍に稀釈したものの酸素消費量は稀釈をしないものの1/2程度になるであろうと実験前に予想されたのに対し，実際はこれに反して蒸溜水で稀釈したものも海水で稀釈したものもともに，稀釈しないものに比べて約3倍の酸素を消費していた。この事実は B. O. D. 測定の際の稀釈についての従来の考え方に反するものであり，その原因は取り扱つている試水中の微生物の性質が変つたことによると思われる。すなわち試水に水を加えて稀釈したことが，その中の微生物にとつては培地を更新した時と同様の効果をもたらし，異状繁殖をしたかも知れない。前述のAの場合にも同様のことが起つていたのかも知れないが，稀釈しないものの酸素がすでに無くなるような状態であつたので，実験結果にこれを明らかにすることができなかつた。このように水で稀釈するだけでも微生物の状態が異状になることは繰り返しの実験でも確かめられたので，筆者は稀釈法を採用しないことにした。したがつて培養24時間で試水中の溶存酸素が失われる程汚濁している時にはむしろ培養時間を短縮してその程度を調べる方がよい。

4. 培養中における酸素減少速度　上に述べた方法によつて実験をする際には微生物は培養中に異常繁殖等をすることなく，できるだけ培養開始時の状態を続けていて，実験にはそのままの状態を現わすことが望ましいのである。このことを確めるために長崎港の水を時季を分けて汲み，前に決めた条件によつて培養し，3時間毎にその1〜2本をとり酸素分析を行なつた。その結果を Table 4 に集録する。この中冬の干潮時に採水したA, B 2例は同時に2本の試料を分析した結果であり，これによつて実験の精度を確め得た。この結果を Fig. 1 に示す。微生物が有機物を利用する生物化学反応は普通一分子反応にしたがうと考えられているが，上記の手続きで求めた結果はこれと違つて直線で表現される。これによりこの条件の下では微生物の繁殖状態はいわゆる CLIFTON の分類[4]における初期定常期 -停滞期に相当するために，微生物は増加することなく培養開始の時に同じ状態で酸化を続けていると考えられる。したがつて培養開始後適当な時に一度酸素の測定を行えば，その溶液中の酸素の状態の変化を推定できる。しかし培養時間は長過ぎると実用的ではないし，短か過ぎると測定誤差の影響が大きくなるので一応24時間と定め，その間の酸素消費量(B. O. I.) によつて汚濁を判定することにした。また培養試験の結果が直線で現わされることは微生物の状態が安定していて定つた酸素消費能をもつことを意味する。したがつて試水毎に葡萄糖を加えて培養して得られる酸素減少速度を試水の特性として考えることができる。

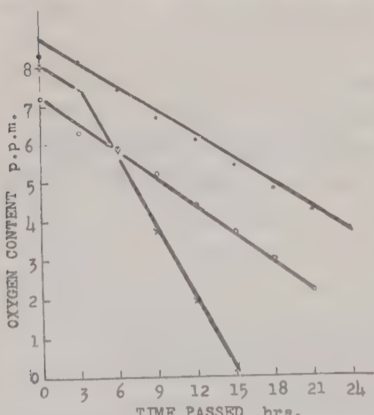


Fig. 1. Relation between incubating time and oxygen content in water samples that were added with 0.1% glucose and incubated. (The samples were taken in Nagasaki bay.) cf. Table 4.
○ Summer High tide.
● Winter High tide.
× Winter Low tide.

Table 4. Decreasing rate of oxygen content in water samples that were added with 0.1% glucose and incubated.

Time hrs.	Summer High tide p.p.m.	Winter Low tide A p.p.m.	Winter Low tide B p.p.m.	Winter High tide p.p.m.
0	7.2	8.08	7.94	8.32
3	6.3	7.42	7.42	8.15
6	5.9	5.89	5.76	7.36
9	5.2	3.74	3.78	6.63
12	4.4	2.00	1.96	6.08
15	3.7	0.30	0.20	5.40
18	3.0			4.80
21	2.2			4.25
24				3.80

5. B. O. I. と細菌数　各試水に葡萄糖を添加し培養して得らる酸素減少の速度は時間的な変化をせず直線で現わすこと

ができるので，もし個々の微生物の酸素消費力が変らず，またその微生物群の種類も一定なものとすることができるならばこの直線の傾斜すなわち酸素減少速度を微生物の数に比例するものと考えることも可能である。

Table 5. Comparison between various indicators of sea water pollution.

	1	2	3	4
B. O. D.	0.20	0.90	0.14	0.02
C. O. D.	0.48	1.68	0.80	0.32
B. O. I.	5.31	8.63	8.45	0.60
Numbers of bacteria				
Common type	73000/cc	144000	5000	40
Specific in sea water	9000/cc	342000	20	90
Coliform	23/100cc	33	13	9.7

この見地から長崎港の水 (1: 湾奥部, 2: 最奥部) および長崎水族館の水 (3: 循環水, 4: 原水) を選び，水質汚濁を示す各指標について調査した。その結果は Table 5 に示す通りである。各汚濁指標は細かく観察すればそれぞれ特色のある数値であるが，その傾向は大体一様のものである。B. O. I. と細菌数との関係も同様であり，長崎港の水あるいは水族館の水というふうに試水の種類を限定して考えれば，その微生物群中の種の混合割合は大体一定した傾向のものであろうから，B. O. I. と微生物数との間にすつきりした関係が得られるかも知れない。しかしながら，2 と 3 の場合のように全然種類の異なつている汚濁水の間では B. O. I. が似ていても細菌数は全然異なつていた。これは両者の B. O. I. を現わす原因が本質的に異つたものによるからであろう。また実際に水族館の循環水には他と異なつて多くの原虫が認められている。B.O.I. と細菌数との関係は細かく見ればこのように簡単ではないが，B. O. I. が大きい時は微生物による汚濁が起り得るのであるから，汚濁の指標として B. O, I. に着目する必要がある。

要　　約

海水に 1000 p. p. m. 相当の葡萄糖を添加して 30°C で 24 時間培養した時の酸素消費量を B. O. I. と呼ぶこととし，これが有機物に繁殖する微生物で汚濁された海域の汚濁指標として有効であることをつぎにより確かめた。

1)　微生物で汚濁した海水に葡萄糖を添加し培養すれば，海水をそのまま培養した時よりも酸素消費量が多くなる。

2)　酸素消費量は葡萄糖がある程度 (10 p.p.m.) 以上あればその添加量と無関係になり一定の値となる。

3)　試水を稀釈すると酸素消費量が異常に増して試水の活性を酸素消費量で現わすことができなくなる。

4)　培養中の酸素消費速度は時間的変化をしないからこれによつて微生物の活性を知ることができる。

5)　B. O. I. 細菌数あるいは他の汚濁指標はそれぞれ特色のある値であるが，その傾向は大体一致している。

文　　献

1)　新田忠雄・荒川　清・杉本仁弥・藤谷　超：　内海区水産研究所研究報告，第 3 号，昭和 28 年 3 月.

2)　SWINGLE, H. S. and M. C. JOHNSON:　Progressive Fish-Culturist;　**15**, No. 1, 27 (1953).

3)　佐伯有常：　水産増殖，**4**，1 (1956).

4)　山田豊一・有馬　啓：　化学の領域，**13**，119 (1959).

繰返し引張荷重による網糸の疲労

本　多　勝　司

(1960 年 4 月 26 日受理)

ON THE FATIGUE OF NETTING TWINES AGAINST REPEATED LOADS

Katsuji HONDA*

To investigate some fatigue properties of netting twines against repeated loads and also the strength of fatigue limit, the present experiments were carried out making use of the apparatus (Fig. 1) using the materials as shown in Table 1.

Various hysteresis loops obtained from above mentioned tests in the initial stage are shown in Fig. 2. There are some differences in the type of loops depending upon the kind of material for the twine. The area within a loop represents the energy loss absorbed in the twine during one cycle of cyclic loading. Saran gives over twice the area of amilan.

It seems that the above area tends to decrease with the practice of the repeated cyclic loading for several hours. Even if the repeated maximum loads increase, the decrease of energy loss after n times treatment to the initial stage has the same tendency in both saran and amilan. Among the samples applied, with saran a little difference has been found whilst with amilan evidently (Fig. 3).

In view of the relation between plastic deformation and maximum load repeated, the strength of fatigue limit is under 17.5 kg with saran and 37.0 kg with amilan respectively (Fig. 4).

This fact is confirmed with next another treatment, namely, according to the relationship between the values of E_N/E_0 and T in Fig. 5, repeated maximum load not producing fatigue seems to be about 17.9 kg with saran and 37.0 kg with amilan respectively.

網糸に繰返し引張荷重を加えたばあいの疲労に対する網糸の性質を知り，進んで疲労限界強力を求めるために，先に著者[1)] の用いた装置 (Fig. 1) で Table 1 に示される材料を用いて実験を行つた。

Table 1. Properties of materials used.

材料名 Material	太さ Fineness	30 cm 間の撚数 Twist number per 30 cm 上撚数 Upper twist number	下撚数 Lower twist number	抗張力 Tensile strength	伸度 Extensibility	試料 30 cm の破断に要する仕事量 Energy necessary for breaking per 30 cm of material length
サラン Saran	300D/33	32.3	61.1	47.9 kg	24.1 %	1.56 kg·m
アミラン Amilan	210D/90	42.2	77.5	74.5	26.4	2.50

Fig. 1 に実験の装置を示す。実験の方法は，まず試料糸の長さ 150 cm をとり 18 時間 5 kg の静荷重を加えて，ある程度の伸びをとり，これをチャック A, B のついているレバーが平行で，その間の距離が 105 cm になるように上の試験糸をチャック A, B に取付け，しかる後レバー B が最右端の位置で，チャック A が連結するベッド C を移動して一定の荷重（これが最大荷重）を与え，モーターを駆動してプーリーを毎分 230～240 回転させる。チャック B のついているレバーに連結するクランク L_2 のプーリーへの取付部がプーリ

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

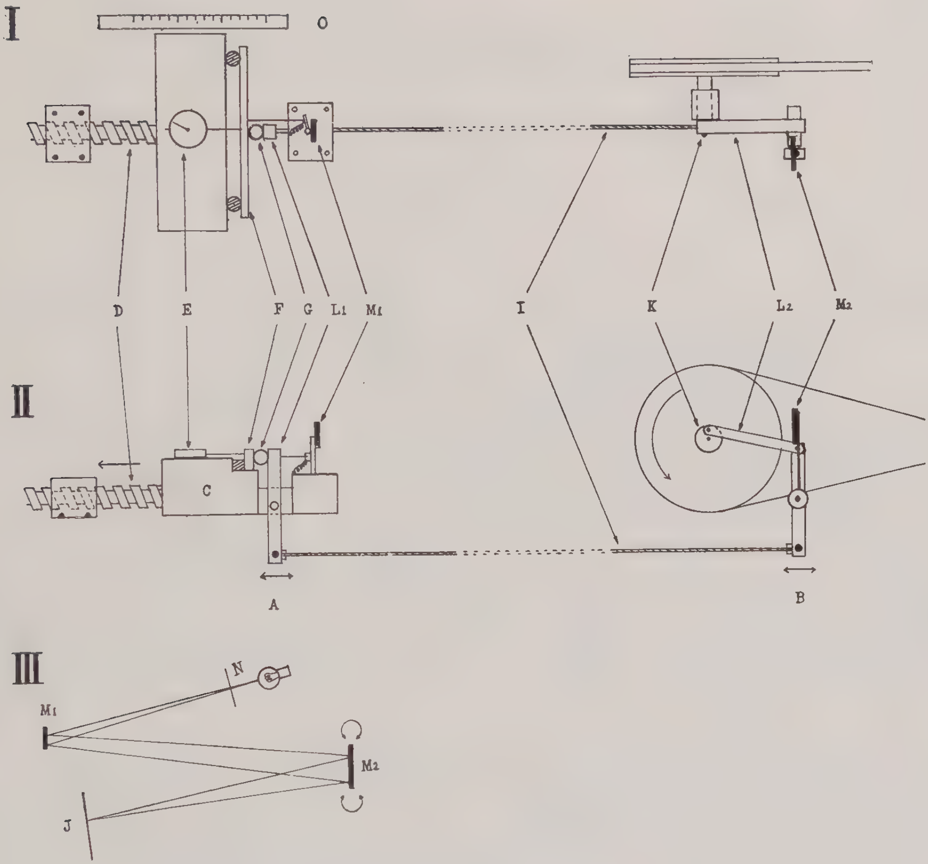


Fig. 1. Schematic diagram of apparatus for photographing the hysteresis loop of the twines.

I : Plane figure	II : Side view	III : Optical lever
A, B : Chuck	C : Bed	D : Screw bar
E : Dial guage	F : Steel bar	G : Steel ball
L_1 : Lever	L_2 : Crank	M_1, M_2 : Mirror
I : Thread sample	J : Printing paper	K : Eccentric shaft
N : Pin hole	O : Scale	

―の回転軸からはずれているから，B は左右に動き，糸に働く荷重が増減し，繰返し荷重が働くようになる。このばあい糸は伸び，糸にかかる最大荷重は減ずるから，最大荷重が常に同じであるようにダイヤルゲージ E をみながらベッド C を左に移動させた。チャック A のついているレバー L_1 は糸に張力が加わると鋼球 G を通してバー F を曲げる。この曲げ（張力）をダイヤルゲージ E で測定し，鋼鉄棒の曲げによる動きにつれて連動するように設置された鏡 M_1 で張力の変化（水平方向）を，一方チャック B の取付けレバーの端にある鏡 M_2 で糸の伸びの動き（垂直方向）をみる。光源よりピンホール N を通る光の像が鏡 M_1, M_2 に反射してスクリーン J 上に像を画かせるようにする。スクリーン上に画かれた像は 1 周期の荷重伸び曲線 (hysteresis loop) である。

実験中は開始時および以後 1 時間毎に hysteresis loop を画かせ最大，最小張力，ベッド C の移動距離および毎分繰返し回数を測定する。所定の繰返し回数後取はずして，試料 30 cm について強伸度を自記装置を用いて測定する。

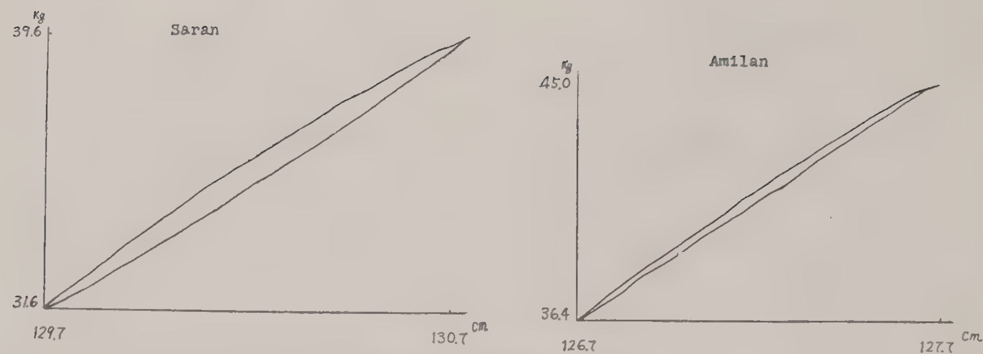


Fig. 2. Hysteresis loop.

Saran, when maximum load repeated is 40 kg; Amilan, when maximum load repeated is 45 kg

繰返し荷重を与えた初期の材料別の1周期の荷重伸び曲線は Fig. 2 のようで，著者[1]の先に指摘したように，その形状は材料の種類により違う。その面積は1回の繰返しによる消費仕事量を表わし，図でわかるように，このばあいサランはアミランの約2倍以上である。

繰返し回数 n と hysteresis loop より求めた始めの仕事量 E_0 と n 回繰返し後のそれ E_n との比 E_0/E_n との関係を，最大繰返し張力別に Fig. 3 に示すと，先の著者の測定のばあいと同様一般に繰返し回数の増加とともに，仕事量は減少し，その減少の割合はサランでもアミランでも最大張力が増してもあまり違わなく，またサランでは資料による差はあまりないが，アミランではそれが著しい。

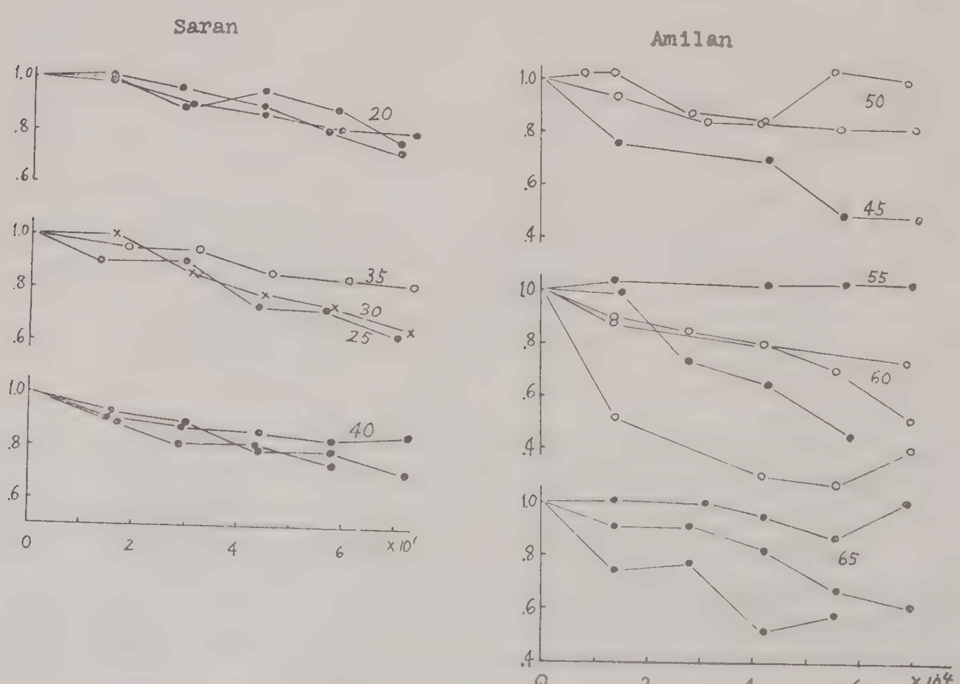


Fig. 3. Relation between E_n/E_0 and the times repeated (ordinate).

E_0: Initial energy loss.

E_n: Energy loss after n times repeated.

Numerals associated with the broken lines are maximum load repeated.

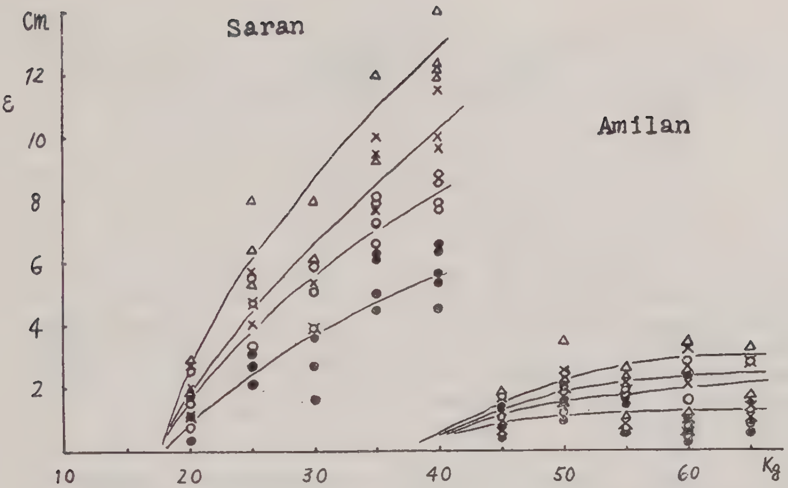


Fig. 4. Relation between ε, the times repeated and maximum load repeated (ordinate).
ε: Plastic deformation
Marks with ●, ○, × and △ show 15,000, 30,000, 45,000 and 70,000 times repeated respectively.

実験の当初に一応伸びを取つてあるので，繰返し荷重をかけて後起きた伸び（このばあいベッド C の最初の位置からの移動距離）をここでは塑性歪 ε と考えて，最大荷重と ε との関係を繰返し回数別に Fig. 4 に示す。これからサランでは最大荷重が 17.5kg くらい，アミランでは 37.0kg くらい以下であれば $\varepsilon=0$ すなわち糸は疲労しないといえよう。このことはつぎのような方法でも確かめられる。

すなわち，網糸に繰返し荷重を加えると疲れて破断に要する仕事量は減少するはずであるから，ここでは一定回数繰返し荷重を加えたる後，破断に要する仕事量 E_N を求め，これと試験前のそれ E_0 との比 E_N/E_0 の変化を調べることにより疲労限界が求められよう。種々の繰返し荷重で連続5時間（繰返し回数約 7×10^4 回）試験後測定した結果は Table 2 および Fig. 5 に示されるようで*，疲労を起さないような繰返し最大張力の値はサランで 17.9kg，アミランで 37.0kg くらいとなり伸びからの結果とほぼ一致する。

Table 2. Values of maximum load repeated, E_0, E_N and E_N/E_0.
Energy necessary for breaking in initial and after n times repeated are denoted by E_0 and E_N respectively.

サラン Saran				アミラン Amilan			
最大荷重 Maximum load kg	E_0 kg·m	E_N kg·m	E_N/E_0	最大荷重 Maximum load kg	E_0 kg·m	E_N kg·m	E_N/E_0
	1.44				2.31		
20		1.31	.91	45		2.25	.95
25		1.03	.72	50		2.15	.90
30		.83	.58	55		2.02	.85
35		.78	.54	60		2.05	.86
40		.74	.52	65		1.90	.80

ここで一定繰返し時間を5時間ととつたのであるが，この範囲内では疲労が認められなくても，この後になつて急に疲労が起るようなばあいには前の考えでは不都合が起きると思われる。そこでさらに網糸サラン

* 反復荷重による疲れのばあい最大荷重のみに影響されることが田内博士（水講試報 22 (3)）により指摘されている。

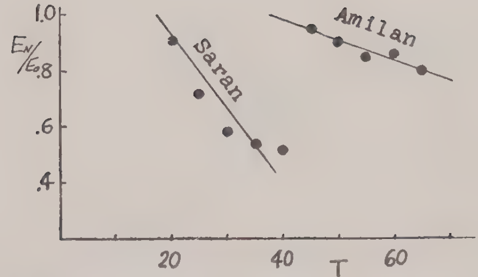


Fig. 5. Relation between E_N/E_0 and maximum load repeated (T).
Energy necessary for breaking in initial and after n times repeated are shown E_0 and E_N respectively.

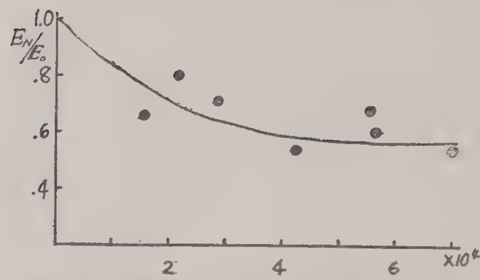


Fig. 6. Relation between E_N/E_0 and the times repeated (ordinate).

に繰返し最大張力 35 kg を与えて繰返し回数の違いによる E_N/E_0 を測定し，その結果を Fig. 6 に示す。図によると網糸は始めに比較的疲れが早く起き，後は疲れの度合は遅くなる傾向がみられる。このことより，7×10^4 回の繰返しに対して疲労を認めないばあいは，それ以後もほとんど疲労しないと考えて差しつかえない。

これらのことから総合してアミランがサランに比べて疲れにくいことがわかる。

終りに論文の御校閲を賜わりました本学名誉教授田内森三郎博士，並びに実験を手伝つて下さつた市川康夫，渡辺正哉の両君にそれぞれ深謝する。

文　　献

1) HONDA, K.: On the fatigue of netting cords under cyclic loads. J. Tokyo Univ. Fish., **40** (1), 1953.

ON THE GROWTH RINGS FOUND IN THE ROOT OF *SARGASSUM RINGGOLDIANUM* HARVEY (FUCALES)

Tadao YOSHIDA*

(Received April 30, 1960)

In the warmer seas around Japan, where the bottom is rocky or bouldery, the upper sublittoral region, for the most part, is covered with communities of algae of the Sargassaceae. These communities not only present very interesting problems in marine algal ecology, but are also important to fisheries science. It has been found that the floating seaweeds of Sargassaceae, detached from their substrata and floating at the sea surface, are associated with the eggs, larvae and juveniles of many useful fishes[1),2)]. It is of fundamental importance in studying the floating seaweeds, to clarify the rate of renewal, structure and productivity of the communities of Sargassaceae.

When the communities of perennial Sargassaceae are under consideration, it is necessary to know the age of individuals. OKAMURA[3)] discussed the age and longevity of some Sargassaceae and assumed the rings found in the conical root or attaching disc of some species, e.g. *Sargassum ringgoldianum*, to be annual growth rings. But his assumption was not verified. It was already known that certain Laminariaceae have growth rings in their stipes, but these were not regarded as annual rings[4)]. BAARDSETH[5)], however, carried out an investigation on growth rings of *Alaria fistulosa*, and said that the age determination could be made from the rings and the sporophyll scars.

The author has now made a study to determine whether or not age determination can be made using the growth rings found in the roots of certain perennial Sargassaceae, especially of *Sargassum ringgoldianum* growing on the northern and western coasts of Kyushu, Japan.

The author wishes to express his sincere thanks to Dr. S. SEGAWA in the Faculty of Agriculture, Kyushu University for his kind guidance throughout this investigation. Thanks are also due to Prof. K. UCHIDA for his kind encouragement, to Dr. R. F. SCAGEL in the University of British Columbia for his suggestions concerning the manuscript, and to Mr. T. SAWADA and Mr. M. HIGAKI for facilitating the collection of the materials.

---

* Dep. of Fish., Fac. of Agr., Kyushu University, Fukuoka, Japan (吉田忠生，九州大学農学部水産学教室).

Contribution from the Dept. Fish., Fac. Agr., Kyushu Univ.

This paper forms a part of a thesis presented for a Master of Agriculture degree at Faculty of Agriculture, Kyushu Univ.

Material

Plants of *Sargassum ringgoldianum* used in this study were collected chiefly at Tsuyazaki, northern Kyushu. They grew in the lower intertidal and upper sublittoral zones of the rocky coast. In addition to these, specimens washed ashore were collected at the above locality and at Tomioka, western Kyushu. The reasons for choosing *S. ringgoldianum* are that (1) it was easier to gather abundant material, because this species forms a consociation at rather shallow places, and (2) the large conical root or attaching disc of this species facilitates the observation of the rings. Collections were made from February, 1957, to April, 1958 once every month or every two months. In spring and summer when a collection is easy to make, all individuals of *S. ringgoldianum* appearing in several quadrats (a quadrat is 0.5 m square) were sampled and examined. But in autumn and winter, individuals of various size were gathered from an indefinite area.

In a cross section of the root, there are concentric zones of dark and pale regions. The dark zone is regarded as a growth ring. In this study, roots were cut longitudinally and showed the ring as seen in a cross section to be made up of pairs of lines (Fig. 1). The pairs of lines were recorded.

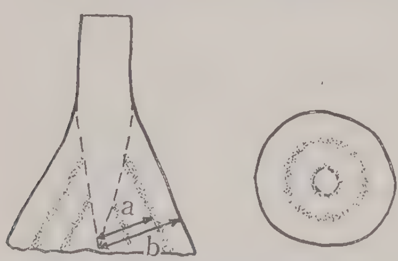


Fig. 1. Sections of the root.

Results and Consideration

(1) The fruiting period of *S. ringgoldianum*

It has been said that *S. ringgoldianum* matures in late spring[6]. The fruiting period of this species is described here in details from the data obtained during the investigation in northern Kyushu.

According to the observations made at Tsuyazaki the reproductive organs were in a very early stage of development on August 11, 1957, but most individuals collected on September 23 were fully mature. In November, almost all branches with receptacles were torn off from the mother plants. The fruiting period of this species is considered, therefore, to be from late August to early October.

The result of examination of floating seaweeds collected near shore at Tsuyazaki showed that *S. ringgoldianum* was abundant among floating seaweeds from July to November, especially from August to September, and was scarce in the other months. Individuals with reproductive organs could be collected at all times from July to November, but in August to September, most individuals had ripe receptacles. Judging from this results, it is concluded that the fruiting period is from July to November[7].

Since the plants collected as floating seaweeds near shore at the above mentioned station may have come from a wide area ranging the coasts of northern and north-western Kyushu, a direct comparison of the data described above is difficult.

(2) Seasonal changes in external appearance

The external appearance of *S. ringgoldianum* changes seasonally in relation to the fruiting period mentioned above. A brief summary of these changes is presented below. In winter, the cylindrical stem bears some flattened main branches which are rather short in length, the branches bear large linear spatulate leaves, and the vesicles are few in number. When spring comes, the branches increase in length, bear gradually smaller leaves, and at the same time, numerous vesicles are formed. Thus, the length and weight of the individuals, which gradually increase, attain a maximum in the fruiting period. At this time, the apices of the main branches already have begun to form long spatulate leaves. The branches bearing receptacles are torn off at their proximal end by the fruiting period is over. Then the plant again bears only large linear spatulate leaves. The main branches become cylindrical at the proximal end. Thus the stem elongates, and the plant becomes larger.

(3) Changes in the peripheral part of conical root

When the sections of conical root are examined carefully, a zone between the outermost lines or growth ring and the surface of root appears newly formed, since this zone is rather paler in colour than the inner region. Although this zone was more or less similar in width in the plants with same number of pairs of lines or rings at certain time of the year, the width of the zone was found to change seasonally when specimens were compared from collections made at all times of the year. The width of the zone showed little change from spring to summer, but it was very narrow in September. Then it became gradually wider. In order to examine this relationship more closely, the ratio *a/b* was studied, where *a* indicates a length between the center of the base and the outermost line, and *b* represents a length from the center of the base to the surface of root, as seen in Fig. 1. This ratio was measured in the individuals with two or three pairs of lines, and is shown in Fig. 2. This figure shows more distinctly the above mentioned relationship. This index decreased from February to August, rose suddenly in September, and then began to fall thereafter. It is evident from this fact that the formation of the line or growth ring shows a clear periodicity, and that the line is formed between August and September. The period between August and September, when compared with the maturation of this species, coincides

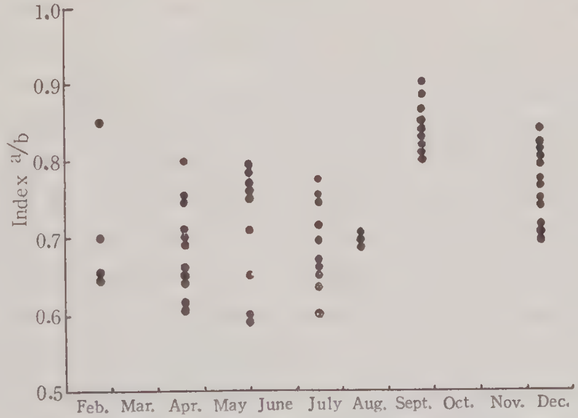


Fig. 2. Seasonal change of index *a/b*.

with the fruiting period or with the time when the receptacles are fully grown, and large lanceolate leaves of the next year arise from the branches.

The number of pairs of lines was examined in the plants with and without receptacles using the materials collected in September, 1957. Although the data are rather few, the following results were obtained. All the individuals with one pair of lines were without reproductive organ. While in a group of individuals with two pairs of lines, about half of them had attained complete maturity, and the rest of them were sterile. All plants with more than three pairs of lines had many receptacles on them. These data are summarized in Fig. 3. From this, it can be said that the individuals of this species begin to reproduce in the second year of growth.

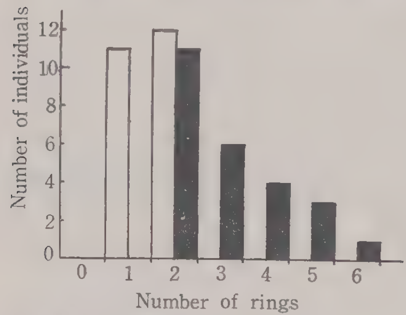
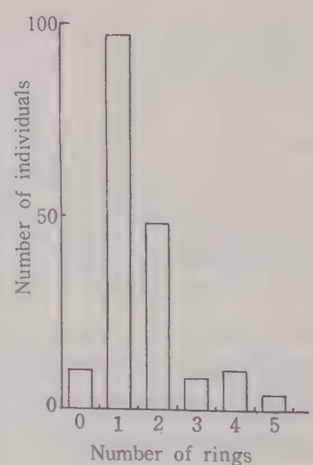


Fig. 3. Age composition of *S. ringgoldianum* collected in September. Open column indicates immature individuals; solid column indicates mature plants.

(4) Age composition of the *S. ringgoldianum* population

The age composition of the plants constituting *S. ringgoldianum* consociation is described here from the data obtained in April, 1957. The survey was carried out on the plants appearing in four quadrats of 0.5 m square. Twenty-three to 72 individuals (mean value of 41) were seen in these quadrats. The age composition of these individuals is shown in Fig. 4. Plants without a pair of lines or growth ring seem to be rather few in number. This is perhaps due to the fact that the shade effect caused by the development of the upper layers in *S. ringgoldianum* consociation made unsuitable conditions to the growth of the next generation. It is not thought to be caused as a result of an error in reading the ring number. However, this point needs further study. It is considered that the omission of individuals from the community of this species is chiefly due to wave action, which tears the plants from the subtratum. In order to determine the omission rate of individuals, the pairs of lines were examined in the plants which were cast ashore at Tomioka, Kumamoto Pref. The results are presented in Fig. 5. It is evident from this figure that the omission of individuals as a result of wave action more frequently occurs among the older plants and less in those which have two or less pairs of lines.



Fg. 4. Age composition of the plants in the natural habitat.

(5) Histological observation of the growth ring

Structure of the pairs of lines or growth rings found in the conical root of this species was studied histologically. The stem runs through longitudinally in the center, becomes gradually slenderer downwards and terminates in the center of the base (cf. Fig. 1). From the lower part of the stem, filaments of about 20μ diameter, which constitute the bulk of the tissue of conical root, are radially oriented, and run horizontally. From them, hyphae of similar diameter grow downwards. The cells of the radially arranged filaments become shorter in length near the surface, and distally these make up several layers of cells, which contain chromatophores (Fig. 6). These cells of the peripheral layer comprise the meristoderm, and divide to bring about surface growth. The dark part, which is apparent as a line or a growth ring with the naked eye, contains a greater amount of pigment than do the other tissues, but there are no differences in the size and mode of arrangement of cells.

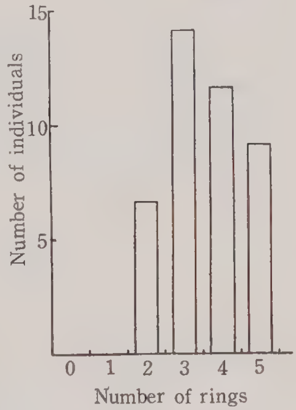


Fig. 5. Age composition of individuals cast up ashore.

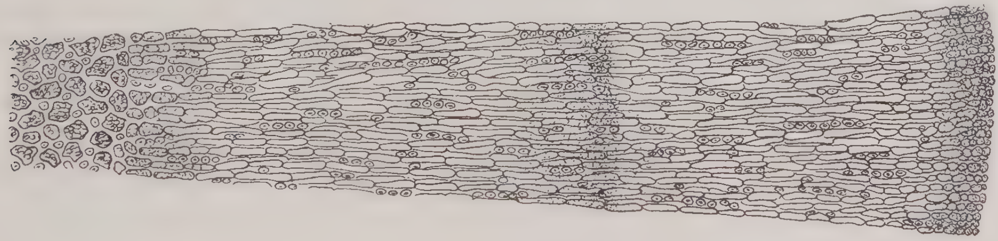


Fig. 6. Cross section of the root. ca. ×20.

Conclusion and Summary

The growth rings of *S. ringgoldianum* were investigated with special reference to age determination, using material collected mainly at Tsuyazaki, northern Kyushu, Japan.

It is clear that the growth ring is formed periodically once a year, between August and September, therefore it is concluded that the ring can be called an annual ring.

One year old plants do not bear reproductive organs. In individuals of two years old, about half attain maturity, and the rest remain immature. All the plants of more than three years old bear receptacles in late summer.

The longevity of this species is considered to be six or seven years, since plants with five pairs of lines are seen in specimens growing in the intertidal zone and six pairs of lines are counted in specimens cast up from deeper water.

References

1) Uchida, K. and Y. Shozima: *This Bull.*, **24**, 411 (1958).
2) Kimura, K., H. Hotta, S. Fukushima, S. Odate, A. Fukuhara, and M. Naito: *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.*, **12**, 28 (1958).
3) Okamura, K.: *Journ. Imp. Fish. Inst.*, **14**, 1 (1919).
4) Oltmanns, F.: Morphologie und Biologie der Algen, II Aufl., Band 2, Jena (1922).
5) Baardseth, E.: in the Second International Seaweed Symposium, (1956).
6) Okamura, K.: Icones of Japanese Algae, **5**, 32 (1924).
7) Segawa, S., T. Sawada, M. Higaki, and T. Yoshida: *Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, **17**, 299 (1959).

ニジマス消化酵素の研究—I.
Carbohydrases

北御門 学・立野新光

(1960 年 1 月 12 日受理)

STUDIES ON THE DIGESTIVE ENZYMES OF RAINBOW TROUT—I. CARBOHYDRASES

Manabu KITAMIKADO and Shinkō TACHINO*

The enzymatic actions of the extracts from the digestive organs were investigated on various growth stages of rainbow trout for the purpose of obtaining some useful knowledge on the culture of the fish. And in this paper the following results are presented.

(1) The activities of amylase and α-glucosidase were recognized in the extracts but not β-glucosidase, α-galactosidase, β-h-fructosidase and cellulase.—(Table 2)

(2) The remarkable hydrolytic action on starch was observed in the digestive organs of the younger stages (body weight less than 4g.). It seemed that the hydrolytic activity increases with the growth of the fish in the early stages, but decreases contrarily after the middle stage (body weight about 100g.), in which the highest activity was found. The activity in the later stage (body weight about 1,000g.) was considerably low.—(Table 3 and 4)

(3) However, the difference of the starch hydrolytic activity with growth was not so much as that of the proteolytic activity which will be described in the following paper[3].

(4) Optimal temperatures of the amylases were relatively low (20°～25°C), and even at a lower temperature (at 5°C) the enzymes did not lose most of their activities.—(Fig. 2)

近年各地でニジマスの養殖が盛んであるが，その生長段階別の消化酵素の種類，性質，強さ等を研究することによつて，魚の養殖特にその餌料についての役立つ知識が得られないだろうかと考えてこの実験を行つた。

実験方法

1) 養殖ニジマス試料: (**A**); 昭和 33 年 11 月 25 日長野県明科町県水産指導所から分譲された，個々の大きさがほぼ等しい 10 尾の1年魚で平均体重は 134g である。(**B**); 昭和 33 年 11 月 25 日から昭和 34 年 8 月 21 日までの間に同指導所から分譲された 0～4 年魚の各群で，それぞれの群は大きさがほぼ等しい 10～100 尾の個体から成立つ (体重 900g 以上の大型魚のみ 4 尾)。(**C**); 昭和 34 年 8 月 31 日から 10 月 1 日までの間に滋賀県醒井養鱒場から分譲された各群の魚で，それぞれの群は大きさのほぼ等しい 10～50 尾の個体から成立つ (大型魚のみ 2 尾)。

魚は原則として前日の午後まで投餌され，当日の午前中に撲殺されたもので，胃には蛹の皮等が少量残存するだけで殆んど空であり，幽門垂と腸とに消化液状物が充満していた。撲殺直後試験紙で測定した各器官内液の pH は胃 2.8, 幽門垂 7.0, 腸 7.8 であつた。撲殺した試料はビニール袋に入れ，外部から氷で冷却しながら実験室に持ち帰つた。

なお試料魚の雌雄は別に考慮しなかつた。

---

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

2) **酵素液: 試料 (A);** 幽門垂は鋏で個々に数個に切断し，指先で軽く圧して内容物を押し出してから，胃と腸とは縦に切つて内容物を除いてから，その他の器官はそのままで，軽く水洗し，沪紙に挟んで水切りをした。このようにして得られた各器官の重量を Table 1 に示した。各器官は等重量の海砂とともに乳鉢で磨砕，器官の2倍重量の 87% グリセリン液を加えてよく混和し，さらに器官の3倍重量の 1/10M 食塩水を加えて攪拌してから 30°C で3時間保温して酵素を抽出した。抽出液は 3,000 回転，10 分間遠心分離し最上層の少量の油状物を除いた上澄液を酵素原液として冷蔵庫中に保存し，用に臨んで 1/10M 食塩水で適当に稀釈して酵素液とした。**試料 (B), (C);** 胃だけを縦に切断し，若し固形内容物が存在した場合にはこれをピンセットを用いて除去してから，その他の器官は内容物を除去しないままで磨砕し，以下試料（A）と同様に処理した。

Table 1. Average weight of various digestive organs of rainbow trout*

Average body weight	Stomach	Pyloric caeca	Intestine	Liver	Gall bladder and Bile
134 g	2.57 g	1.42 g	0.75 g	1.52 g	0.30 g

* Ten fishes (body weight, 126～136g) was used.

3) **抽出酵素液の炭水化物分解力の測定法:** 一定量の酵素液によつて，各基質から生成する還元糖量を BERTRAND 法で測定した。そして反応開始時には基質と酵素液とを別々に保ち，基質側に除蛋白試薬（フェーリング液）を加えてから両者を混合したものを処理して得られた対照実験値を差引いた。ただし cellulase の検討では反応終了後反応系から基質（脱脂綿）を取り出して水洗し，反応液と洗液とを合わせたもので還元糖量を測定するとともに，水洗した脱脂綿は恒量になるまで乾燥してから秤量して反応前後の重量変化を測定した。

なお反応液は 2% 相当のトルオールを加えて防腐した。

4) **魚体が有する消化酵素の強さの比較:** 消化器官の魚体に対する重量比は魚種によつて，また同一魚種内でも魚体の大小によつて異るので，消化器官抽出液の作用力をもつてその魚体が有する酵素の強さを表わ

Table 2. Hydrolytic activities of the extracts from the digestive organs of rainbow trouts (average body weight, 134g) on various carbohydrates

Original enzyme solution was obtained by extracting the ground digestive organs with 5 times weight of the mixture solution (87% glycerol and 1/10 M NaCl solution, 2: 3), and diluted with 1/10 M NaCl solution to 20 times volume. The reaction mixtures (see below) were incubated at pH 7.2 and 20°C for 24 hrs in the presence of toluol (2%), and the amounts of reducing sugar produced were measured by the BERTRAND's method and expressed as mg of copper.

Reaction mixture for measuring amylase activity; 5 *ml* of enzyme solution, 30 *ml* of 1% soluble starch solution and 10 *ml* of 2/10 M phosphate buffer solution: for measuring *α*-glucosidase, *β*-glucosidase, *α*-galactosidase or *β*-*h*-fructosidase activity; 5 *ml* of enzyme solution, 5 *ml* of 1% substrate solution (indicated in the table) and 5 *ml* of 2/10 M phosphate buffer solution: for cellulase activity; 5 *ml* of enzyme solution, 1g of absorbent cotton and 10 *ml* of 1/15 M phosphate buffer solution

Substrate \ Organ	Stomach	Pyloric caeca	Intestine	Liver	All digestive* organs
Soluble starch	45 mg. Cu	126 mg. Cu	54 mg. Cu	46 mg. Cu	105 mg. Cu
Maltose	0	11	10	2	8
Salicin	0	0	0	0	0
Melibiose	0	1	1	1	1
Sucrose	0	0	0	0	0
Absorbent cotton	0	0	0	0	0

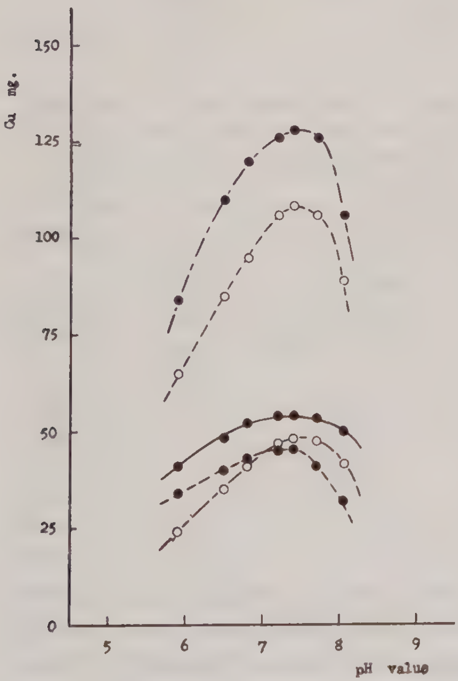
* Stomach, pyloric caeca, intestine, liver, pancreas, gall bladder and bile were included.

すのは不充分である。それで消化器官抽出液の酵素力に $\frac{\text{消化器官重量}}{\text{体重}}$ を乗じた値（単位体重当りの酵素の強さ）を算出し，これで異種魚間または大きさの異る魚間の消化酵素の強さを比較した。

実　験　結　果

1)　ニジマスの各器官における carbohydrase の分布： 試料（A）を用いた。Table 2 に示したごとく，各器官からの抽出液に相当強い amylase と α-glucosidase とを認めたが，β-glucosidase, α-galactosidase, β-*h*-fructosidase および cellulase は存在不明であつた。なお稀釈しない酵素原液を用いても amylase と α-glucosidase 以外の酵素の存在は確認されなかつた。また cellulase の検討で供試脱脂綿の反応前後における重量に差は認められなかつた。

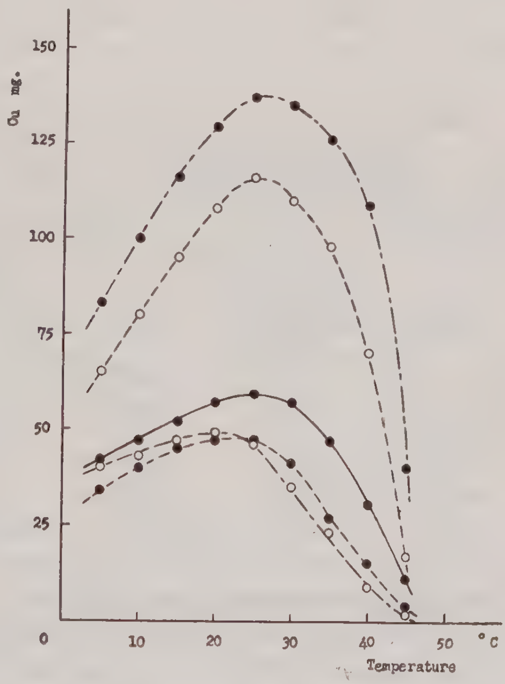
2)　ニジマス amylase の最適作用条件： 試料（A）を用いた。Fig. 1 と 2 とに示したように 24 時間消化では胃，幽門垂，腸，肝臓から抽出された amylase およびこれらの器官に膵臓と胆嚢（および胆汁）とを加えた全消化器官から抽出された amylase ともすべて pH 7.4 附近，温度 25°C 附近（肝臓のものだけ 20°C 附近）が最適作用条件であつた。



●-·-·-● Extract from pyloric caeca
○-----○ 〃 〃 all digestive organs
●——● 〃 〃 intestine
○-·-·-○ 〃 〃 liver
●-----● 〃 〃 stomach

Fig. 1. Effect of pH on the starch hydrolytic activities of the digestive organs of rainbow trout

Experiments were carried out at various pH and 20°C for 24 hrs. Enzyme solutions and other experimental conditions were the same as those described in Table 2.



●-·-·-● Extract from pyloric caeca
○-----○ 〃 〃 all digestive organs
●——● 〃 〃 intestine
○-·-·-○ 〃 〃 liver
●-----● 〃 〃 stomach

Fig. 2. Effect of temperatures on the starch hydrolytic activities of the digestive organs of rainbow trout

Experiments were carried out at various temperatures and pH 7.4 for 24 hrs. Enzyme solutions and other experimental conditions were the same as those described in Table 2.

3) **ニジマスの各生長段階における amylase の強さ:** 試料は (B) と (C) とを用いた。Table 3 と 4 とに示したように魚体が大きくなるにつれて amylase は段々強くなり，体重 100g 前後の魚で最強に達し，体重 1kg 近い大型魚ではまた弱くなつていた。

Table 3. Comparison of the starch hydrolytic activities of the extracts from all digestive organs in various growth stages of rainbow trout (collected from Nagano prefecture)

Experiments were carried out at pH 7.4 and 20°C for 24 hrs, and other experimental conditions were the same as those described in Table 2 with the exception of enzyme solution.

(A) Body weight	(B) Weight off all digestive organs	(C) Activity	(D) $\frac{(B)\times(C)}{(A)}$
1.7 g	0.16 g	71 mg. Cu	6.7
4.7	0.46	75	7.3
11.3	1.2	71	7.5
18.4	1.6	87	7.6
123	8.9	105	7.6
960	68	67	4.8

Table 4. Comparison of the starch hydrolytic activities of the extracts from the digestive organs in various growth stages of rainbow trout (collected from Shiga prefecture)

Experimental conditions were the same as those described in Table 3 with the exception of enzyme solution.

Enz. soln.	Extract from all digestive organs			Extract from (pyloric caeca + intestine)		
(A) Body weight	(B) Weight of all digestive organs	(C) Activity	(D) $\frac{(B)\times(C)}{(A)}$	(E) Weight of (pyloric caeca + intestine)	(F) Activity	(G) $\frac{(E)\times(F)}{(A)}$
1.3 g	0.12 g	58 mg. Cu	5.3	— g	— mg. Cu	—
3.9	0.34	60	5.2	0.14	63	2.3
11.9	1.1	64	5.9	0.48	61	2.5
88	8.2	69	6.4	4.1	69	3.2
172	14.3	72	6.0	6.9	72	2.9
980	70	51	3.7	33	48	1.6

4) **他種魚の amylase の強さとの比較:** 草食性の度合が強いコイとアユ，肉食性の度合が強いウナギとを選び，それらの全消化器官(胃，幽門垂，腸，肝臓，膵臓，胆嚢および胆汁またはこれらに代るべき器官)からの抽出液の澱粉分解力をニジマスのそれと比較した。**試料** (**D** とする) はいずれも昭和 34 年 9 月 14 日から 10 月 1 日までの間に採集されたもので，コイとウナギとは三重県産養殖魚，アユは岐阜県産天然魚，ニジマスは滋賀県醒井養鱒場から分譲されたものである。いずれも 10 尾ずつの成魚を用いたが，平均体重および全消化器官重量は Table 5 に示した。前述のニジマス (B), (C) 試料の場合と同様に前処理した全消化器官から 5 倍重量の 0.9% 食塩水で抽出した液を同食塩水でさらに 100 倍に稀釈して酵素液とした。実験が多数となるため amylase の強さは酵素作用によつて生成した還元糖量を FEHLING-LEHMANN-SCHOORL 法により測定することによつて検討した。

それぞれの最適 pH, 30°C における抽出液の酵素力を Table 5 に示したが，同時に最適 pH および温度を附記した。その結果ニジマスの amylase の強さはコイ，アユとウナギとの中間にあることを知つた。なお 5°~25°C においてもこの 4 種の魚の amylase の強さの比は 30°C における場合と殆んど同じであつた。

Table 5. Comparison of the starch hydrolytic activities of the extracts from the digestive organs of various kinds of fishes

Each original enzyme solution was obtained by extracting all digestive organs of each fish with 5 times weight of 0.9% NaCl solution, and diluted with the same NaCl solution to 100 times volume.

Two m*l* of enzyme solution, 5 m*l* of 2.4% soluble starch solution and 5 m*l* of 2/10 M phosphate buffer solution were incubated at 30°C and respective optimal pH (indicated in the Table) for 3 hrs, the amounts of reducing sugar produced were measured by FEHLING-LEHMANN-SCHOORL's method, and expressed as m*l* of 1/10 N $Na_2S_2O_3$ solution.

Fish	(A) Body weight	(B) Weight of all digestive organs	(C) Optimal pH	(D) Optimal temp.	(E) Activity (1/10 N $Na_2S_2O_3$ m*l*)	(F) $\frac{(B)\times(E)}{(A)}$
Carp *Cyprinus carpio*	191 g	12.1 g	7.7	40 °C	5.93	0.376
Ayu *Plecoglossus altivelis*	29.6	0.87	7.7	40	4.02	0.118
Eel *Anguilla japonica*	177	7.70	7.7	55	0.08	0.003
Rainbow trout *Salmo irideus*	172	13.6	7.4	35	0.55	0.044

考　　察

肉食性の度合が強い魚の消化器官には amylase は存在しても α-glucosidase や β-*h*-fructosidase は弱いのに対して，草食性の度合が強い魚では非常に強い amylase の他に α-glucosidase や β-*h*-fructosidase も存在することが知られている[1]。従来マス類は肉食性の度合が非常に強い魚とされているようであるが，ニジマスの消化器官には β-*h*-fructosidase こそ認められなかつたが，相当強い amylase とかなりの α-glucosidase とが存在していていた。そしてニジマスの有する amylase の強さは草食性の度合が強いコイやアユのものと比較すると非常に弱いものではあつたが，肉食性のウナギのものよりは遙かに強く，むしろ石田の報告[2]にある雑食性のブダイ *Calotomus japanicus* のものと匹敵するようであつた(魚種による amylase の強さがその食性のみならず運動性とも関連しているからであろう)。すなわち同一作用条件（器官を5倍量の稀グリセリン液で抽出したものを酵素液とし，本報の実験方法 3）と同じ測定法で可溶性澱粉に対して 30°C, pH 7.0, 24 時間作用された場合）でブダイの肝膵臓抽出液は 92.8 mg 銅相当の還元糖を生成するとの報告に対し，試料 (A) のニジマスの肝臓抽出液は 148.0 mg 銅相当を生成した。またブダイ腸抽出液が平均 143.0 mg 銅相当を生成するのにニジマス腸抽出液は 230.0 mg 銅相当を生成した。また α-glucosidase についても同様で，麦芽糖を基質としてブダイ肝膵臓抽出液が 3.5 mg 銅相当の還元糖を生成するのに対してニジマス肝臓抽出液は 6.7 mg 銅相当を，ブダイ腸抽出液が平均 27.3 mg 銅相当を生成するのに対してニジマス腸抽出液は 41.7 mg 銅相当を生成した。（ただしブダイの腸はニジマスと比較して非常に長いので魚体が有する全 amylase または α-glucosidase としてはブダイの方が強いことが予想されるが，原報に使用魚の体重が記載してないために比較ができなかつた。）なお養魚場から給水道へ逃亡して天然餌料のみを食しているニジマスも養殖魚とほぼ同程度のかなり強い amylase を有していた。これらのことからニジマスは肉食性とはいつてもかなりの炭水化物消化力を有する魚のようである。

一方ニジマスの amylase は体重 1.3g といつた非常に小さな魚においてもかなり存在していたので，稚魚と成魚との間に澱粉分解力の差はさほどないのではあるまいか。このことは次報[3]の protease が魚体が相当大きくならないと強く表われないのと甚だ対照的である（第 III 報[4]，Fig. 3 参照)。

またニジマス amylase の最適温度は比較的低く，かつ，より低温においても活性度はさほど減少しなかつた。次報[3]において詳報するがニジマスの消化器官の抽出液はカゼインや魚粉を基質とした場合 5°C と

20°C とにおける分解力の比が 0.32〜0.44 であり，低温においては蛋白分解作用力は著しく減少する。 しかるに可溶性澱粉または小麦粉を基質とした場合，両温度における分解力の比は 0.63〜0.78 であり，低温においても澱粉分解力はさほど減少しない。このことは冬期に水温が非常に低下する養魚場や日中水温変化が甚だしい時期等には充分考慮すべき問題であると考える。

摘　　要

1) ニジマスの消化器官にはかなりの強さの amylase と α-glucosidase とが認められたが β-glucosidase, α-galactosidase, β-h-fructosidase, cellulase 等は存在不明であつた。

2) ニジマスの amylase は肉食魚としてはかなり強いもので，コイやアユのものには劣るがウナギのものよりは遙かに強く，むしろ雑食性のブダイのものに匹敵する程であつた。

3) amylase は稚魚初期のニジマスの消化器官にもかなり認められ，稚魚と成魚とでは澱粉分解力にさほど差がないのではないかと思われた。

4) ニジマスの amylase は最適温度が低く，またより低温においてもよく作用するものであつた。

最後に試料魚の御分譲等の御便宜を賜わつた長野県水産指導所の谷崎所長始め職員御一同様，並びに滋賀県醒井養鱒場の伊藤場長始め職員御一同様に心から御礼を申し上げます。

文　　献

1) 富山哲夫: "酵素化学工業全集", 17 巻, 厚生閣 (1940).
2) 石田寿老: 動物, **47**, 694 (1935).
3) 北御門 学・立野新光: 本誌, 685 (1960).
4) 北御門 学・立野新光: 本誌, 691 (1960).

ニジマス消化酵素の研究—II.
Proteases

北御門　学・立野新光

(1960 年 1 月 12 日受理)

STUDIES ON THE DIGESTIVE ENZYMES OF RAINBOW TROUT—II. PROTEASES

Manabu Kitamikado and Shinkō Tachino*

In succession to the previous report on carbohydrases[1], the proteolytic actions of the extracts from the digestive organs were investigated in various growth stages of rainbow trout. And the following results were obtained.

(1) The hydrolysis of casein by the extract from stomach was proceeded in acid side (optimal pH was 2.8), and that from pyloric caeca or intestine in alkaline side (optimal pH was 9.5).—(Fig. 1)

(2) The proteolytic activity of the extract form stomach was conspicuous in the early stages, and the stomach extract of the younger stage (body weight about 12g.) showed an almost same activity as that found in the middle stage (body weight about 100g.). In the later stage (body weight about 1,000g.) the almost same activity was found.—(Table 2)

(3) On the other hand, the proteolytic activity of the extract from pyloric caeca and intestine was extremely low in the early stages (body weight less than about 4g.). It seemed that the activity increases with the growth of the fish, especially in the growth period from about 4 to 20g. of body weight. The highest activity was found in the extract of the middle stage, and after that the activity decreased gradually. The activity of the later stage was considerably low.—(Tables 1 and 2)

(4) The proteases of the digestive organs were active at relatively high temperatures (optimal temperatures were 40°～45°C), and lost markedly their activities at low temperatures.—(Fig. 2)

前報[1]の carbohydrase に引続き本報では protease について報告する。

実験方法

1) **試料**: 長野県水産指導所および滋賀県醒井養鱒場から分譲された養殖ニジマス並びに三重県近郊で集めたコイ，アユ，ウナギで前報[1]の (A)～(D) 試料である。

2) **酵素原液**: **試料** (A)～(C); 胃のみは別に用意した 10～20 尾づつ（大型魚のみ 2 尾）の魚のものを 5 倍重量の 0.2% 塩酸で室温，3 日間抽出して原液としたが，その他の個々の器官および全消化器官[1]については前報で用いた原液（2 倍重量の 87% グリセリンと 3 倍重量の 1/10M 食塩水の混液で抽出したもの）を使用した。**試料** (D); 前報で用いた原液（5 倍重量の 0.9% 食塩水で抽出したもの）を使用した。なお全原液は前報と同じく 1/10M 食塩水で稀釈して使用した。

3) **抽出酵素液の蛋白分解力測定法**: 1/25 M の乳酸，燐酸またはアムモニウム塩緩衝液に加熱溶解後 pH 調節を行つた 0.6% のカゼイン溶液 5 ml に，酵素液 1 ml を作用させて生ずるトリクロル醋酸可溶の

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

FOLIN 試薬呈色物質を測定し，反応液中に生成したチロシン量に換算して示した[2]。

実験結果

1) ニジマスの各器官における protease の分布: 試料 (A) を用いた。Fig. 1 に示したように胃には酸性側で働く protease を，幽門垂と腸とにはアルカリ性側で働く protease を認めた。また肝臓，膵臓等からの抽出液も蛋白分解作用を示したが，上記 3 器官からの抽出液と比較すると非常に弱いものであつた。例えば肝臓抽出液の蛋白分解力はその最適 pH 6.1 において pH 9.5 における幽門垂抽出液の分解力の約 1/25 に過ぎなかつた。

2) ニジマス protease の最適作用条件: 試料 (A) を用いた。Fig. 1 と 2 とに示したように使用条件下では胃の protease の最適 pH は 2.8 附近，最適温度は 35°～40°C 附近であり，幽門垂と腸とのものは pH 9.5 附近，45°C 附近であつた。なお Fig. 1 には作用時間 20 分での pH—活性度曲線を示したが，作用時間が 24 時間の場合には最適 pH は変らないがそれからずれるほど活性度はより減少した。

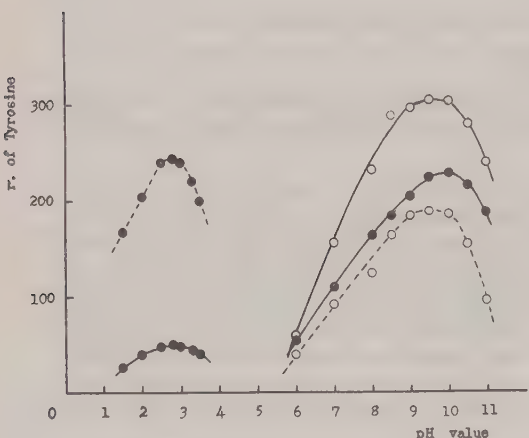


Fig. 1. Effect of pH on the proteolytic activities of the digestive organs of rainbow trout.

Original enzyme solution was obtained by extracting ground digestive organ with 5 times weight of appropriate solvent, and diluted with 1/10 M NaCl solution to 20 times volume. The solvent used for stomach was 0.2% HCl solution, for the other organs or for all digestive organs[1] was the mixture solution of 87% glycerol and 1/10 M NaCl solution (2: 3). One ml of enzyme solution and 5 ml of 0.6% casein solution were incubated at various pH and 20°C for 20 min., and the amounts of hydrolytic products of the protein were measured according to the colorimetric method with the phenol reagent of FOLIN and expressed as γ of tyrosine.

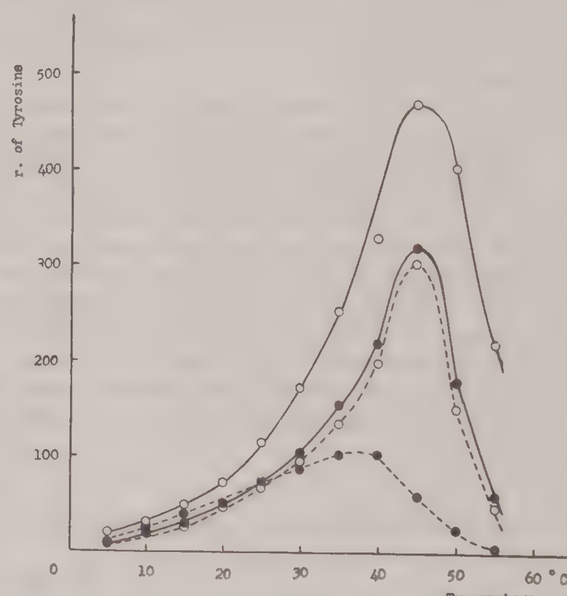


Fig. 2. Effect of temperature on the proteolytic activities of the digestive organs of rainbow trout.

The original extracts were diluted to 5,000 times volume. The experiments were carried out for 24 hrs at pH 2.8 by stomach extract, and at 9.5 by pyloric caeca, intestine or all digestive organs extract.

3) ニジマスの各生長段階における protease の強さ: 試料 (B) と (C) とを用いた。Table 1 と 2 とに示したように胃の protease は稚魚でもかなり存在したが，幽門垂と腸との protease が充分に存在する

のは相当大きな魚になつてからであつた。また amylase の場合と同様体重 1kg 近い大型魚では protease も衰えていた。

Table 1. Comparison of the proteolytic activities of the extracts from the all digestive organs[1)] in various growth stages of rainbow trout

Experimental conditions were the same as those described in Fig. 1 with the exception of the enzyme solution. The fish were collected from Nagano prefecture (Exp. 1), and from Shiga prefecture (Exp. 2).

Experiment 1				Experiment 2			
(A) Body weight	(B) Weight of all digestive organs	(C) Activity* at pH 9.5	(D) $\frac{(B)\times(C)}{(A)}$	(E) Body weight	(F) Weight of all digestive organs	(G) Activity* at pH 9.5	(H) $\frac{(F)\times(G)}{(E)}$
1.7 g	0.16 g	23 γ	2.1	1.3 g	0.12 g	31 γ	2.7
4.7	0.46	29	2.9	3.9	0.34	44	3.8
11.3	1.2	56	5.9	11.9	1.1	95	8.8
18.4	1.6	149	13.3	15.6	1.3	151	12.6
123	8.9	224	17.0	88	8.2	240	22.4
960	68	175	10.7	980	70	208	21.7

* Proteolytic activity was expressed as γ of tyrosine.

Table 2. Comparison of the proteolytic activities of the extracts from stomach or from pyloric caeca and intestine in various growth stages of rainbow trout (collected from Shiga prefecture).

Enz. soln.	Extract from stomach			Extract from (pyloric caeca + intestine)			
(A) Body weight	(B) Weight of stomach	(C) Activity at pH 2.8	(D) $\frac{(B)\times(C)}{(A)}$	(E) Weight of (p.c. + in.)	(F) Activity at pH 9.5	(G) $\frac{(E)\times(F)}{(A)}$	(H) (D)+(G)
3.9 g	0.14 g	86 γ	3.1	0.14 g	57 γ	2.1	5.2
5.3	0.21	106	4.2	0.29	71	3.9	8.1
11.9	0.30	216	5.5	0.48	242	9.8	15.3
15.6	0.39	204	5.1	0.73	316	14.8	19.9
88	2.8	212	6.7	4.1	424	19.7	26.4
172	4.2	238	5.8	6.9	457	18.4	24.2
980	23.7	219	5.3	33	366	12.3	17.6

4) **他種魚の protease の強さとの比較**: 試料 (D) を用いた。アルカリ性側で働く protease の強さを Table 3 に示したが，ニジマスはほぼ同体重のコイやウナギよりも強い protease をもつていた。そして魚種間の protease の強さの差異と，それらの食性との間には carbohydrase の場合のような関連性は見られず，むしろ運動性と関連性があるようであつた。

なおこの実験では全消化器官からの抽出液を用いたため，酸性側で働く protease の検討には不適当であつた。しかしニジマスとウナギの全消化器官抽出液は酸性でも活性を示し，かつウナギのものは使用条件下で 2.5 に最適 pH をもち，ニジマスのものの約4倍の強さを示した。コイとアユとの抽出液は酸性では殆んど活性を示さなかつた。

5) **ニジマス protease による生魚肉と加熱魚肉との消化速度の差異**: アジ肉を 10 倍量の 1/20 M 乳酸塩または燐酸塩緩衝液に懸濁し，ブレンダーで5分間処理，軽く遠心分離して泡を除いたものの pH を

Table 3. Comparison of the proteolytic activities of the extracts from the all digestive organs of various kinds of fishes

The experiments were carried out with the enzyme solution obtained by means of the dilution of original extracts to 40 times volume, at pH 9.5 and 30°C for 20 min.

Fish	(A) Body weight	(B) Weight of all digestive organs	(C) Optimal pH	(D) Optimal temp.	(E) Activity at pH 9.5	(F) (B)×(E)/(A)
Carp *Cyprinus carpio*	191 g	12.1 g	10.0	55 °C	186 γ	11.8
Ayu *Plecoglossus altivelis*	29.6	0.87	10.0	50	362	10.6
Eel *Anguilla japonica*	177	7.7	9.5	50	59	2.6
Rainbow trout *Salmo irideus*	172	13.6	10.0	50	312	24.6

2.8 と 7.8 (胃と腸との内液の pH) とに調節した。そのままの生基質，または沸騰水中に 10 分間浸した加熱基質懸濁液 20 ml (386 mg の粗蛋白含有) に試料 (C) の抽出液（いずれも抽出原液を20倍に稀釈したもの）2 ml づつを加えた。2% のトルオールの存在下で，胃からの抽出液は pH 2.8 で，幽門垂と腸とを合せたものからの抽出液は pH 7.8 で 20°C, 24 時間作用させた。反応終了後 18% トリクロル醋酸 5 ml を加え，30 分後沪過，トリクロル醋酸可溶性窒素量を KJELDAHL 法で測定した。対照実験値を差引いた結果，胃の抽出液では数回の実験値を平均して生基質 81 mg を消化したのに対して加熱基質は 61 mg を消化しただけであつた。一方幽門垂と腸との抽出液では生基質 136 mg に対して加熱基質 179 mg を消化した。従つて加熱基質の消化速度は胃の酸性で働く protease による消化では減少したが，幽門垂と腸とのアルカリ性で働く protease による消化では逆つて増大し，他種魚の protease を用いて知られている結果と一致した。なおこの実験では基質魚肉を予め多量の緩衝液に懸濁してから加熱したので，加熱後も蛋白は懸濁状態を保ち，粒子がさほど大きくなつたとは思われなかつた。従つて魚肉をそのまま加熱凝固し粒子を大きくして供試すると，胃の protease による消化速度はこの実験での値よりも低下することが予想される。

考　　察

胃の protease と幽門垂または腸の protease とは種類が異るものではあるが，この 3 つの器官からの抽出液のカゼイン消化力の和が魚の消化管内に存在する全 protease の強さと比例するとするならば，Table 2 の結果から体重 4g のニジマスの体重当りの全 protease の強さ[1] を 1 とした場合体重 10g の魚のものは 2~3，体重 100g の魚のものは 5，体重 1,000g の魚のものは 3~4 となるようである。そして体重 4g 以下の魚のものは勿論 1 よりも小さい。すなわちニジマスの稚魚期に有する protease は成魚のものより非常に弱いと考えられ，前報の amylase は稚魚期でもすでに成魚とさほど差がないほど存在するのと非常に対照的である。従つて稚魚初期のニジマスはこのように弱い protease で以つて必要量だけの餌料蛋白を消化しなければならないわけで，以上の比較値からだけでも稚魚初期に与えられる餌料蛋白がいかに消化のよいものでなければならないかを考えさせられる。一方，ニジマスは稚魚初期にも相当強い amylase を有しているのであるから，この酵素を充分に活用できるような餌料組成が当然考えられてもよいのではあるまいか。なお大型親魚は稚魚ほどではないが食用を目的として養殖される 200g 位までの中型魚よりは protease や amylase がかなり衰えていることも，この期の魚の飼育に際して忘れてはなるまい。

胃の protease を見てみると Table 2 の結果で体重 3.9g のニジマスでもかなりの強さを有しており，また体重 12g になると一応成魚のものに近い強さまで発達しているようである。従つて胃の protease の発達経過は幽門垂と腸との protease の発達が非常に遅れるのとは異つている (第 III 報[3]，Fig. 3 参照)。ま

た体重 1kg 近い大型魚となつても胃の protease は相当強く，幽門垂と腸との protease が衰えるほどには弱くならないようである。

一方幽門垂と腸との protease は稚魚期では成魚と比較して非常に弱い。そして Table 1 の実験1では体重 1.7g から 4.7g までの生長期間中にこの protease は殆んど増加していないし，実験2でも 1.3g から 3.9g までの生長期間には殆んど増加していない。これに対して Table 2 の試料では 3.9g から 5.3g までの生長期間中に急激な増加が認められた。従つてこの protease は体重約 4g までの生長期間は発達が悪く，4g から 20g までの生長期間に急激に発達して来るものと考えられる（第 III 報，Fig. 3 参照）。それから体重 100g 位までの生長期間にも徐々に強くなり，しばらく一定の強さを保つてから以後は逆に次第に衰えるものと思われる。従来ニジマスは秋稚魚（体重約 4g）からの養殖が比較的容易であるといわれる原因の一つはこれまで生長した魚は幽門垂と腸との protease が速やかに発達して来るからではあるまいか。そして体重 12g 位になると胃の protease は殆んど完成され，また幽門垂と腸との protease も非常に強くなつているので，ここから体重の急激な増大期に向うのであろう。

ニジマス消化器官内の protease の発達経過が以上のようなものであるために，胃の protease の強さは体重 4g の魚では幽門垂と腸との protease の強さの和にほぼ等しいのに，体重 10g の魚ではその 1/2，100g の魚では 1/3 以下に当る（第 III 報，Fig. 3 参照）。従つて稚魚期の蛋白消化作用は成魚に比較して胃によつている率が大きいわけである。だからニジマスの稚魚に対しては，そのビタミンあるいは生長促進因子の破壊等は別として単に餌料蛋白の消化の難易というだけの観点からしても，胃の protease による消化を難しくするところの餌料蛋白の加熱凝固は注意すべき問題を含んでいよう。

また前報においても触れたようにニジマス protease の 24 時間消化における最適温度は胃のもの 35°〜40°C，幽門垂と腸とのもの 45°C であり，amylase のそれが 25°C であるのと比較していずれも高い。そして amylase が低温でもよく作用するのに protease は活性度を著しく減ずる。amylase と protease との低温における活性度減少率の差は可溶性澱粉とカゼインとを基質とした場合にだけ見られるのではなく，実際にニジマスに与えられる餌料である小麦粉と魚粉とを基質とした場合にも同様に見られる。Table 4 に試

Table 4. Effect of temperature on the amylase and protease activities of rainbow trout.

	Enzyme solution	Substrate	pH value used	Enzyme activity* at 5°C (A)	Enzyme activity* at 20°C (B)	(A)/(B)
Amylase	Extract from (pyloric caeca + intestine)	Wheat flour**	7.4	40 mg	52 mg	0.78
	〃 intestine	Soluble starch	7.4	***	***	0.73
	〃 pyloric caeca	〃	7.4	***	***	0.63
Protease	Extract from stomach	Fish meal	2.8	17	39	0.44
	〃 (pyloric caeca + intestine)	〃	7.8	33	89	0.37
	〃 stomach	Casein	2.8	***	***	0.38
	〃 intestine	〃	9.5	***	***	0.32
	〃 pyloric caeca	〃	9.5	***	***	0.32

* Original enzyme solution was diluted to 4 times volume. Two m*l* of the enzyme solution and 20 m*l* of 1/15 M phosphate or 1/10 M citrate buffer solution containing 1g of fish meal were incubated at 5°C or 20°C for 24 hrs in the presence of 0.25 m*l* of toluol, and the amounts of digested protein were measured by KJELDAHL's method. On the other hand, 2 m*l* of the enzyme solution and 20m*l* of 1/15 M phosphate buffer solution containing 0.2g of wheat flour** were incubated in the same experimental conditions. The amounts of reducing sugar produced were measured by BERTRAND's method and expressed as mg of copper.

** The suspension containing wheat flour were immersed in boiling water bath for 10 min. and cooled, previously.

*** Calculated from the results of this and previous paper[1)]

料 (C) の体重 88g のニジマスの各消化器官からの抽出液の高温 (20°C) と低温 (5°C) とにおける澱粉分解力と蛋白分解力とを示した。従つてニジマスの amylase と protease との強さの比は稚魚と成魚とで異るばかりでなく，同一個体においても環境水温によつて異るはずである。だから高温と低温とでのニジマスの飼育では，魚の色々な代謝の差異とともにこの消化酵素の強さの変化も飼料組成あるいは投餌量の決定に際して考慮されるべき問題の一つであり，日中水温変化が激しい時期や冬期に水温が非常に低下する養魚池では特に飼料蛋白の不消化を起させないように注意すべきではなかろうか。

ニジマス飼料上の諸問題の最終的解決は魚の飼育試験の結果をまたなければならないことは勿論であるがここではその飼育試験実施についての参考にもなればと思い敢て以上の考察を加えてみた。

摘　　要

1) ニジマスの胃には酸性で働く protease が，幽門垂と腸とにはアルカリ性で働く protease が認められた。

2) ニジマス protease の最適温度はカゼイン基質，24 時間消化において胃のもの 35°～40°C，幽門垂と腸とのもの 45°C であり，amylase の最適温度が 20°～25°C であるのと比較して非常に高かつた。また amylase は低温でもよく働くが protease は低温では著しく弱くなつた。

3) ニジマスの成魚はほぼ同体重のコイやウナギと比較してより強い protease をもつていた。

4) ニジマスの稚魚初期の protease は成魚と比べて非常に弱く，同期の amylase が成魚に近い強さであるのと非常に対照的であつた。

5) 稚魚初期の protease が弱いのは幽門垂と腸との酵素が特に弱いからで，胃の酵素はかなり存在していた。また大型親魚の protease が衰えているのも胃の酵素ではなく幽門垂と腸との酵素が特に弱くなつているからであつた。

終りに色々な御援助を賜わつた長野県水産指導所の谷崎所長始め御一同様，並びに滋賀県醒井養鱒場の伊藤場長始め御一同様に心から御礼を申上げます。

文　　献

1) 北御門　学・立野新光： 本誌，**26**，679 (1960).
2) 赤堀四郎編： "酵素研究法 II"，朝倉書店，p. 238 (1956).
3) 北御門　学・立野新光： 本誌，**26**，691 (1960).

ニジマス消化酵素の研究—III.
Esterases

北御門 学・立野新光

(1960年1月12日受理)

STUDIES ON THE DIGESTIVE ENZYMES OF RAINBOW TROUT—III. ESTERASES

Manabu KITAMIKADO and Shinkō TACHINO*

In succession to the previous reports on carbohydrases[1] and proteases[2], the tributyrin hydrolytic action of the extracts from the digestive organs was investigated in various growth stages of rainbow trout. And the following results were obtained.

(1) The hydrolytic action was recognized in the extracts from liver, pancreas, gall bladder and bile, intestine, pyloric caeca and stomach.—(Table 1)

(2) The hydrolytic activity of the extract increased in the early stages with the growth of the fish. The highest activity was found in the extract of the middle stage (body weight about 100g.), and after that the activity decreased gradually. The activity of the later stage (body weight about 1,000g.) was considerably low.—(Table 2)

(3) The change of tributyrin hydrolytic activity with the growth was quite similar to that of the starch hydrolytic activity in all growth stages.

(4) Optimal temperatures of the esterases were relatively low (20°～25°C), and even at lower temperature (at 5°C) the esterases did not lose most of their activities.—(Fig. 2)

前報[1,2]の carbohydrase および protease に引続き，本報では esterase について報告する。

実験方法

1) 試料: 長野県水産指導所および滋賀県醒井養鱒場から分譲された養殖ニジマスで前報[1]の (A), (B), (C) 試料である。

2) 酵素原液: 前報で用いた原液（2倍重量の 87% グリセリンと3倍重量の 1/10M 食塩水の混液で抽出したもの）を使用した。なお原液の稀釈には前報と同じく 1/10M 食塩水を用いた。

3) 抽出酵素液の esterase 力の測定法: 1/10M になるように 1% ポリビニルアルコール液にトリブチリンを加え，ブレンダー処理をして乳状基質を作製した。基質液 10ml, 1/15M 燐酸塩（または 1/10M アムモニウム塩）緩衝液 5ml および酵素液 5ml とからなる反応液に，反応終了後アセトン・エーテル混液 (1: 1) 10ml を添加し，フェノールフタレイン（またはチモールフタレイン）を指示薬として 1/10N アルコール性苛性カリ液で生成した酸を滴定し，酵素力はその所要 ml 数で表わした[3]。なお反応期間中は酵素液と基質とを別々に保ち，酵素液に反応停止剤（アセトン・エーテル混液）を加えてから両者を混合したものについて同様に処理して対照実験値を得，本実験値から差引いた。

実験結果

1) ニジマス各器官における esterase の分布: 試料 (A) を用いた。Table 1 に示したように esterase は肝臓，膵臓，胆嚢（および胆汁）で強く，腸，幽門垂，胃にも認められた。

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

Table 1. The tributyrin hydrolytic activities of the extracts from various digestive organs of rainbow trout (average body weight, 134 g)

Five ml of the enzyme solution (obtained by means of the dilution of original extract[1] to 10 times volume), 10 ml of tributyrin emulsion and 5 ml of 1/15 M phosphate buffer solution were incubated for 24 hrs, at pH 7.2 and 20°C. After the adding 10 ml of acetone-ether mixture (1: 1), the amount of the acid produced was measured by the titration with 1/10 N alcoholic KOH solution.

Experiment \ Digestive organ	Stomach	Pyloric caeca	Intestine	Liver	Pancreas	Gall bladder and Bile	All digestive organs
	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml
Sample	1.66	2.04	2.21	4.96	4.51	2.36	3.59
Control	1.35	1.58	1.70	2.04	1.98	0.87	1.78
Difference	0.31	0.46	0.51	2.92	2.53	1.49	1.81

2) ニジマス esterase の最適作用条件： 試料 (A) を用いた。Fig. 1 に示したように esterase は弱酸性から弱アルカリ性の広い pH 範囲で強く働くので，その最適 pH は判然としなかつたが，肝臓のものは 6.8～7.6，腸のものは 7.5 附近のようであつた。最適温度は作用時間の長短によつて異り，24 時間消化では Fig. 2 に示したように肝臓のもの 30°C，腸のもの 25°C であつたが，3 時間消化ではそれぞれ 35°C と 30°C とに移行した。なおニジマス esterase は amylase と同様比較的低温においても強く働き得る酵素であつた。

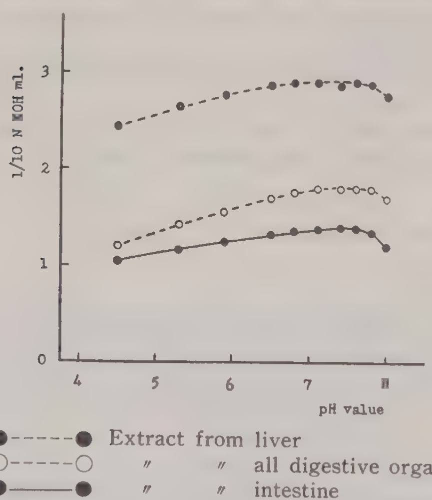


Fig. 1. Effect of pH on the tributyrin hydrolytic activities of the digestive organs of rainbow trout

Original enzyme solution extracted from liver or all digestive organs was diluted to 10 times volume, and that from intestine did to 2 times volume. Fxperimental conditions were the same as described in Table 1 with the exception of pH.

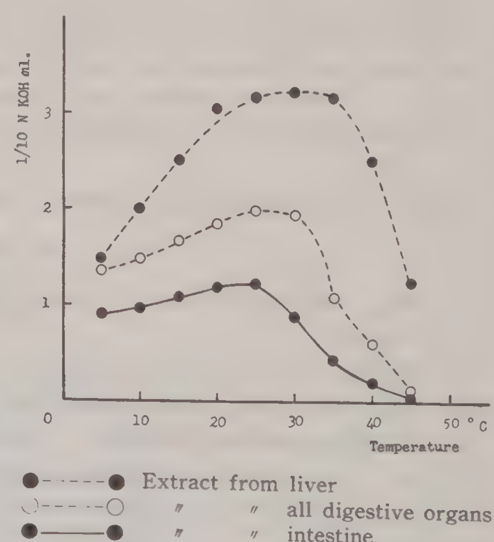


Fig. 2. Effect of temperatures on the tributyrin hydrolytic activities of the digestive organs of rainbow trout

Experiments were carried out for 24 hrs at pH 7.4, and other experimental conditions were the same as those described in Fig. 1.

3) ニジマスの各生長段階における esterase の強さ： 試料 (B) と (C) とを用いた。Table 2 と 3 とに示したように体重 1.3g または 3.9g といつた稚魚初期の魚においてもかなりの esterase が認められた。そして esterase は魚の生長とともに徐々に強くなつて行き，体重約 100g の魚で最強に達し，それからは逆に衰えて行くようであつた。また各生長段階における各酵素の単位体重当りの強さ[1] を Fig. 3 に示した

Table 2. Comparison of the tributyrin hydrolytic activities of the extracts from all digestive organs in various growth stages of rainbow trout

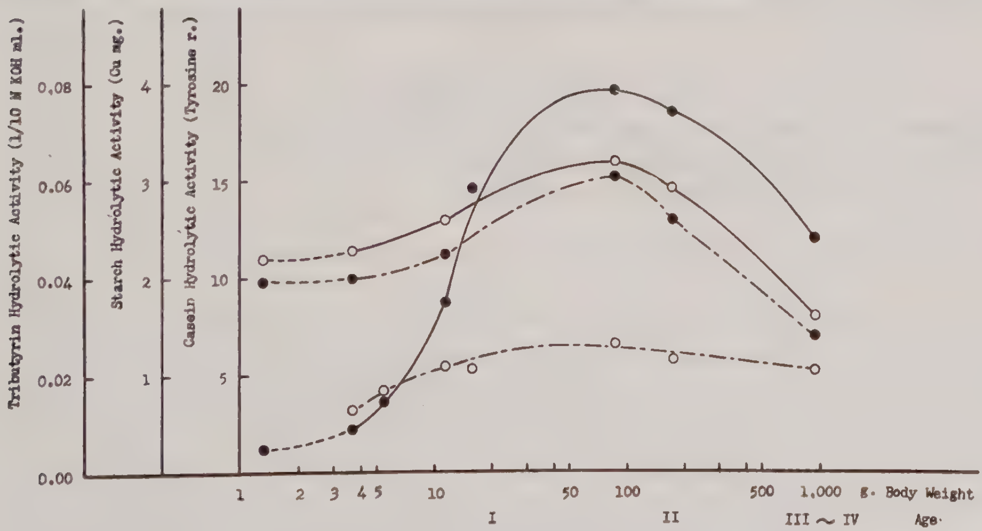
The fish were collected from Nagano prefecture, and the experiments were carried out with the enzyme solution obtained by means of the dilution of the original extracts to 10 times volume for 24 hrs, at pH 7.4 and 20°C.

(A) Body weight	(B) Weight off all digestive organs	(C) Activity (1/10N KOH ml)	(D) $\frac{(B)\times(C)}{(A)}$
1.7 g	0.16 g	1.1	1.0
4.7	0.46	1.1	1.1
11.3	1.2	1.1	1.2
18.4	1.6	1.6	1.4
123	8.9	1.6	1.2
960	68	0.9	0.6

Table 3. Comparison of the tributyrin hydrolytic activities of the digestive organs in various growth stages of rainbow trout

The fish were collected from Shiga prefecture, and the experimental conditions were the same as those described in Table 2.

Enz. soln.	Extract from all digestive organs			Extract from (pyloric caeca + intestine)		
(A) Body weight	(B) Weight of all digestive organs	(C) Activity (1/10N KOH ml)	(D) $\frac{(B)\times(C)}{(A)}$	(E) Weight of (p.c. + in.)	(F) Activity (1/10N KOH ml)	(G) $\frac{(E)\times(F)}{(A)}$
1.3 g	0.12 g	2.0	1.8	— g	—	—
3.9	0.34	2.0	1.7	0.14	1.1	0.04
11.9	1.1	1.9	1.7	0.48	1.2	0.05
88	8.2	1.9	1.8	4.1	1.3	0.06
172	14.3	1.9	1.6	6.9	1.3	0.05
980	70	1.5	1.1	33	0.9	0.03



●———● Activity of pyloric caeca and intestine on casein
○—·—·○ 〃 stomach on casein
○———○ 〃 pyloric caeca and intestine on starch
●- - - -● 〃 pyloric caeca and intestine on tributyrin
- - - - - - - - 〃 all digestive organs

Fig. 3. Enzymatic activities of the extracts from the digestive organs in various growth stages of rainbow trout[1,2].

が，esterase の発達または衰移の経過は amylase のものと酷似していた。従つてニジマスの生長につれて強さが大きく変化する酵素は protease，特に幽門垂と腸との protease であり，amylase と esterase とはさほど変化しないようであつた。

4）ニジマス esterase の各種基質に対する作用： 酢酸エチル，トリブチリン，オリーブ油を 100 ml の 1% ポリビニルアルコールにそれぞれ 1.0 ml，2.8 ml，3.0 ml づつ懸濁し，ブレンダー処理を行つて各種乳状基質を作製した。これらの基質 10 ml に試料（A）の全消化器官からの抽出原液 5 ml づつをを加え，pH 7.2 において 30°C で4時間振盪しながら作用させた。その結果酢酸エチル区では 0.16 ml，トリブチリン区では 3.39 ml，オリーブ油区では 0.42 ml の 1/10 N 苛性カリ相当の酸生成が見られ，トリブチリンに対する作用が最も強く表われた。そしてニジマスの個々の消化器官からの抽出酵素もすべてトリブチリンに対して最も強く作用するものであつた。

摘　　要

1）ニジマスの esterase は肝臓，膵臓，胆嚢（および胆汁）において強く腸，幽門垂，胃にも認められた。

2）ニジマスの esterase はトリブチリンに対し弱酸性から弱アルカリ性に至る広い pH 範囲で強く作用し，その最適 pH は肝臓のもの 6.8～7.6，腸のもの 7.5 附近のようであつた。

3）ニジマスの esterase の最適温度はトリブチリン基質，24 時間消化において肝臓のもの 30°C，腸のもの 25°C であつたが，3時間消化ではそれぞれ 35°C と 30°C とに移行した。

4）ニジマスの esterase は稚魚初期においてもかなりの強さが認められ，魚の生長とともに徐々に強くなり，体重 100g 前後の魚で最強に達し，それからは次第に衰えるようであつた。そしてこの esterase の発達並びに衰移の経過は amylase の経過と酷似していた。

最後に試料魚の御分譲および種々の御便宜を賜わつた長野県水産指導所の谷崎所長始め御一同様，並びに滋賀県醒井養鱒場の伊藤場長始め御一同様に心から御礼を申上げます。

文　　献

1）北御門 学・立野新光：本誌，**26**，679（1960）．
2）北御門 学・立野新光：本誌，**26**，685（1960）．
3）日本化学会編：“実験化学講座”，**24**，p. 239（1958）．

アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—XI. 貝の各組織における有機酸について

堀　口　吉　重

(1960 年 2 月 27 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON *PTERIA* (*PINCTADA*) *MARTENSII* (DUNKER) AND *HYRIOPSIS SCHLEGELII* (V. MARTENS)—XI. ON THE ORGANIC ACIDS IN EACH TISSUE OF THE SHELL-FISH

Yoshishige HORIGUCHI*

This series of experiments were carried out in order to elucidate the effects of organic acids on the calcium metabolism in shell-fishes, the present papar, deals with the qualitative and quantitative analyse of organic acids in each tissue of pearl oyster and fresh water pearl oyster. The results obtained are summarized as follows.

1) By papar partition chromatography, the existence of acetic acid, propionic acid, lactic acid, succinic acid, malic acid, α-ketoglutaric acid, pyruvic acid and the trace of fumaric acid were confirmed for each tissue of pearl oyster, and a considerable amount of fumaric acid and the preceding organic acids except malic acid were found in each tissue of fresh water pearl oyster (see Tables 2～4).

2) By means of silica gel coloumn chromatography, it was found that the amounts of organic acids were about 220 mg.% in the mantle, 216 mg.% in the gills, 179 mg.% in the viscera and 173 mg.% in the adductor muscle of pearl oyster, and 220 mg.% in the adductor muscle, about 200 mg.% in the mantle and gills, 121 mg.% in the viscera of fresh water pearl oyster, respectively.

40～75 per cent of organic acids in each tissue was proved to be acetic acid.

3) From Figure 1, it is noticeable that the diurnal variation of the concentration of organic acids in the soft tissues of pearl oyster was found such as lactic acid in the adductor muscle increases about twice in the night (19～35 mg%) compared with that in the daytime (12～20 mg.%).

本報告につづく一連の実験は貝類の Ca 代謝におよぼす有機酸の影響を明らかにするために行なつたものである。

真珠の表面を電子顕微鏡で観察すると，aragonite の結晶には成長，溶解の各形態が認められるので，真珠は aragonite 結晶の成長，部分的溶解，再結晶をくり返しながら形成すると考えられており[1]，この際 aragonite 結晶の成長，溶解は分泌液中の $CaCO_3$ 濃度の増減と密接な関係を持つと推定されている。貝体中の $CaCO_3$ 濃度の消長に関係する因子としては，炭酸基の主要供給源としての代謝性 CO_2 が推定され[2),3),4)]，さらに内部呼吸において tricarboxylic acid cycle に関与する酵素系の一部が明らかにされるとともに[5),6)]，$CO_2 + H_2O \leftrightarrows H_2CO_3$，$CO_2 + OH^- \leftrightarrows HCO_3^-$ 等の反応を加速する carbonic anhydrase の重要性が指摘されているが[7)−12)]，Ca イオン濃度を変化せしめる因子についてはほとんど知られていない。

著者は貝体内において Ca イオンの消長に関係する一因子として，呼吸代謝の結果 CO_2 とともに生産される有機酸を仮定し，まづ有機酸濃度の日週変化が貝体内の Ca イオン濃度，分泌液中の $CaCO_3$ 濃度におよぼす影響を明らかにしようと試みた。

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, Japan).

貝体内の有機酸に関する従来の研究によれば，主に運動量と関連して閉殻筋の乳酸生成量[13]，呈味成分としてのコハク酸，その他の不揮発酸量[14),15]，海水中の溶存 CO_2 の貝体内転位に関連してカキの外套膜における有機酸量[4] 等が報告されているが，アコヤガイ，イケチョウガイの有機酸については報告が見られない。このためまづ両貝の各組織についてシリカゲルカラムクロマトグラフィとペーパークロマトグラフィにより有機酸を定性，定量的に分析するとともに，主要有機酸濃度の日週変化を測定したので，それらの結果について報告する。

材料および分析方法

1. 試 料 貝

実験は 1958 年 3 月より 12 月の間に行なつた。アコヤガイは三重県英虞湾産 2, 3 年貝 (7～30g) を，イケチョウガイは琵琶湖産貝 (100～150g) を用いた。有機酸含量は貝の老若，季節，昼夜，空中放置時間等により相違するので，試料貝の選定に際してはこれらの諸条件を考慮しなるべく一定に保つように注意した。

2. 有機酸試料の調製

水中よりとり上げた貝は直ちに開殻し，外套膜，鰓，閉殻筋，内臓に分け，5% 三塩化醋酸を加え，密栓瓶中に貯蔵する。各組織は水を加えてホモジェナイズし，ついで遠心分離する。残渣はさらに三塩化醋酸で2回抽出し，抽出液は合して NaOH で中和する。この際沈澱を生ずれば除く，加熱濃縮してほとんど乾固せしめれば三塩化醋酸はクロロホルムと Na_2CO_3 に分解する。氷冷下 1N H_2SO_4 を加えて有機酸を遊離せしめ，1～2g のシリカゲルを加えてよく混合し，予め準備したシリカゲルカラムの上層に 50% (Vol) *n*-ブタノール・クロロホルム混液とともに注入し，つぎに同液約 200 m*l* を通し有機酸を抽出する。抽出液は NaOH で中和後，水層をとり，有機溶媒層は水で2回洗滌して混酸ソーダ塩は全部水層に移す。これを濃縮，乾固して有機酸の試料とする。

3. シリカゲルカラムの調製および操作

Bulen et al[16]，高井[17]の報告を参考にした。Mallinckrodt 製のシリカゲル (100 メッシュ) を用いてカラムを調製し，前述のごとく調製した試料について 5, 10, 35% (Vol) *n*-ブタノール・クロロホルム混液を用いて各有機酸を展開させる。流出液は 2.5 m*l* づつとり，phenol red を指示薬として 0.01N NaOH で滴定する。

4. ペーパークロマトグラフィ

揮発酸[18]: 5% (Vol) *n*-ブタノール・クロロホルム混液より得た有機酸ソーダの水溶液について，エステル化したのち蒸溜して得た有機酸エステルよりヒドロキサム酸を導き，水飽和ブタノールにより展開せしめ，塩化鉄飽和ブタノールで呈色せしめる。

不揮発酸[19]: 10～35% (Vol) *n*-ブタノール・クロロホルム抽出液より得た不揮発酸ソーダ塩液は pH 4.0～4.5 とし，ブタノール・醋酸・水 (4: 1: 1) で展開後，100°C で2時間乾燥し，brom phenol blue で呈色せしめる。

ケト酸[20]: 組織ホモジェネートの三塩化醋酸抽出液よりケト酸ヒドラゾンを導き，3% アンモニア飽和ブタノールにより展開せしめる。

5. 乳酸の定量

シリカゲルクロマトグラフィにより乳酸，コハク酸，フマール酸は個々の酸を完全に分離し難いので，別に組織ホモジェネートの三塩化醋酸除蛋白液について hydroxy diphenyl 法[21]により乳酸を比色定量する。

実験結果および考察

1. 既知酸の分離と回収

予備実験において貝に比較的多く含まれることを見出した醋酸，プロピオン酸，フマール酸，乳酸，コハク酸，リンゴ酸について濃度既知の標準酸混液をつくり，前述の方法によりシリカゲルカラムを通して各酸

Table 1. Separation and recovery of organic acids by means of the silica gel column chromatography.

Acid	Composition of solvent	Volume of solvent used (ml)	No. of peak	Amount* added (ml)	Amount* found (ml)	Per cent recovery	Rf values** of organic acids in each peak
Propionic	5% n-butanol in chloroform	200	1	13.10	12.55	95.8	0.62 ± 0.01 (卄)
Acetic	5% 〃		2	17.50	17.15	98.0	0.44 ± 0.02 (卄)
Fumaric Succinic Lactic	10% 〃	150	3	29.80	28.80	96.7	0.81 ± 0.02 (卄) 0.72 ± 0.02 (卄)
Malic	35% 〃	100	4	9.5	9.55	100.5	0.50 ± 0.02 (卄) 0.72 ± 0.02 (±)

Remarks: * Amounts of Acids were expressed as ml. of 0.01N NaOH required for neutralization of organic acids.
** Rf values of organic acids in each peak were obtained from one dimensional accending papar chromatography. As solvents, n-butanol saturated with water for hydroxyamic acids derived from volatile acids and butanol-acetic acid-water (4: 1: 1) for nonvolatile acids were used respectively.

を分離し，回収率を求めた。また各ピークの抽出液に含まれる酸はペーパークロマトグラフィにより展開させ spots の数より各酸の分離度を検討した (Table 1)。

シリカゲルに吸着された混合有機酸のうち，プロピオン酸と醋酸は 5% (Vol) n-ブタノール・クロロホルムにより抽出され，かつ両酸はそれぞれのピークを示した。10% (Vol) n-ブタノール・クロロホルム混液によりフマール酸，コハク酸，乳酸が順次抽出されるので各酸のピークは認められるが，大部分は重なり合い，個々の酸を分離，定量することは困難である。カラムに残溜するリンゴ酸と微量のコハク酸，乳酸は 35% (Vol) n-ブタノール・クロロホルムによりほぼ完全に抽出される。

各酸の回収率は揮発酸ではプロピオン酸，醋酸はそれぞれ約 96%，98% フマール酸＋コハク酸＋乳酸では混合酸総量として約 97%，リンゴ酸は 100% を示しいづれも良好な回収率を得た。後述するごとく，不揮発酸としてアコヤガイは主に乳酸，コハク酸，リンゴ酸を含み，イケチョウガイは乳酸，コハク酸，フマール酸を比較的多く含むので，これら混合不揮発酸量より別に比色法により得た乳酸量を差引いてアコヤガイのコハク酸，イケチョウガイのコハク酸＋フマール酸量を求めた。

2. アコヤガイ，イケチョウガイにおける有機酸の種類とその含量

両貝の各組織から抽出した有機酸を前述の方法により定性，定量分析を行ない Table 2, 3, 4 の結果を得

Table 2. Amounts and Rf values of organic acids in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

No. of peak	1　2	3		4	Total (average) (mg% on wet basis)
Tissue ＼ Corresponding acid	Propionic + acetic (propionic) (mg% on wet basis)	Lactic* (mg% on wet basis)	Succinic (mg% on wet basis)	Malic (mg% on wet basis)	
Mantle	108～159(35)	14～19	35～66	20	220.5
Gills	129～181(31)	15～26	11～22	19	210.0
Viscera	54～ 68(20)	13～20	37～63	51	178.5
Adductor msucle	55～103(47)	12～28	20～64	32	173.0
Rf value	0.62 ± 0.01, 0.44 ± 0.02	0.72±0.02	0.73±0.01	0.50±0.02	

Remarks: The experiment was carried out on the 10th Oct.-10th Nov. 1958. Weight of the pearl oyster used were 20～30g.
* Lactic acid was measured by hydroxy diphenyl method.

Table 3. Amounts and Rf values of organic acids in each tissue of *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS).

No. of peak / Corresponding acid / Tissue	1 2 Propionic + acetic (propionic) (mg% on wet basis)	Lactic* (mg% on wet basis)	3 Succinic + fumaric (as succinic) (mg% on wet basis)	Total (average) (mg% on wet basis)
Mantle	65～ 94(16)	13～23	91～115	200.5
Gills	102～191(30)	12～16	23～ 47	195.5
Viscera	35～ 89(10)	13～17	43～ 45	121.0
Adductor muscle	86～105(25)	39～42	61～108	220.5
Rf value	0.62 ± 0.01, 0.44 ± 0.02	0.72±0.02	0.73 ± 0.02, 0.81 ± 0.01	

Remarks: The experiment was carried out on the 5th Oct.-20th Nov. 1958. Weight of the fresh water pearl oyster used ranged from 100 to 150g.
* Lactic acid was measured by hydroxy diphenyl method.

た。

Table 4. Rf values of hydrazones derived from ketonic acids in shell-fishes.

Shell-fish	*n*-butanol saturated with 3% NH_4OH
Pteria martensii (DUNKER)	0.06 ± 0.02, 0.47 ± 0.01
Hyriopsis schlegelii (v. MARTENS)	0.06 ± 0.02, 0.35 ± 0.02
α-ketoglutaric acid	0.06 ± 0.02
Pyruvic acid	0.35, 0.47

アコヤガイの各組織よりは醋酸，プロピオン酸，乳酸またはコハク酸，リンゴ酸，α-ケトグルタール酸，ピルビン酸に相当する spots とフマール酸に相当する痕跡の spot が得られ，イケチョウガイの各組織よりは前記の有機酸のうち，リンゴ酸を認め得ず，フマール酸に相当する大きい spot を得た。

JODREY et al[5]はカキの外套膜における呼吸酵素として isocitric dehydrogenase, succinic dehydrogenase, cytochrome oxidase, fumarase, milic dehydrogenase, oxalacetic dehydrogenase の作用を認め，糖代謝における tricarboxylic acid cycle の存在を推定しているが，アコヤガイ，イケチョウガイに上述の有機酸が検出されたことはカキにおけるのと同様に糖代謝における tricarboxylic acid cycle の存在を示唆している。またアコヤガイ，イケチョウガイにクエン酸の存在を確認することができなかつたが，これはカキにおいてクエン酸に作用する aconitase が見出されず[5]，イケチョウガイの内部呼吸もクエン酸の添加により促進されない[8]点と関連して注目される。

つぎに両貝の有機酸の主な相違としてはリンゴ酸を含むアコヤガイにフマール酸が痕跡しか認められず，リンゴ酸の認められないイケチョウガイに比較的多量のフマール酸を含むことである。

最近の報告によれば HAMMEN et al.[4]はカキの外套膜よりプロピオン酸，コハク酸，乳酸，グリセリン酸，α-ケトグルタール酸，ピルビン酸，フマール酸，リンゴ酸を検出しているが，それらの有機酸はアコヤガイ，イケチョウガイの各組織における有機酸群と類似する。

貝の有機酸含量は種々の条件（老若，季節，昼夜等）により変動しやすい。たとえば貝を大気中に放置するとグリコーゲンの存在する限り無気的解糖作用により CO_2 とともに有機酸が生成することが知られているが[22]，アコヤガイを大気に晒すと 1～10 時間では外套膜と鰓の揮発酸はいずれも半減し，外套膜の不揮発酸も減少したが，鰓の不揮発酸はわずかながら増加した (Table 5)。このため貝は水中よりとり上げたのち直ちに開殻し，各組織に分ち，三塩化醋酸液で固定することにした。

運搬のため 5～10 時間大気に晒したのち，2～10 日間実験室内の水槽において飼育したアコヤガイ，イケチョウガイの各組織より約 121～220 mg% の有機酸を得た。また養殖漁場の現場で採取，測定した 2 年生アコヤガイの揮発酸は約 160～400 mg% を示した。各組織の有機酸濃度はアコヤガイでは外套膜 > 鰓 > 内

Table 5. Influence of the exposure in the air on the amounts of the organic acids in living tissues of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

Acid	Acetic + propionic (as acetic acid) (mg.% on wet basis)			Lactic+succinic+malic (as succinic) (mg% on wet basis)		
Time exposed (hrs) / Tissue	0	1	10	0	1	10
Mantle	110～152	68	60～78	72～76	54～74	21～ 41
Gills	129～181	63	46～60	24～46	77	90～110

The experiment was carried out on the 10th～15th Oct. 1958.
Room temp. 20°～23°C. Weight of the pearl oyster used ranged from 20 to 30g.

臓＞閉殻筋の順に高いが，イケチョウガイでは閉殻筋に最も高く，その他の組織ではアコヤガイと同様の順に含まれる。各有機酸のうち揮発酸（大部分は醋酸よりなりプロピオン酸は少ない）は約 40～75% を占め，とくにアコヤガイの鰓，外套膜，イケチョウガイの鰓，閉殻筋には約 100mg% 以上が含まれる。乳酸は約 10～40mg% 含まれ，とくにイケチョウガイの閉殻筋に多い。コハク酸は 11～66mg%，リンゴ酸は 19～51mg%，コハク酸＋フマール酸は 23～115mg% を得たが，両貝ともに鰓に少ない傾向が見られる。

両貝におけるこれら有機酸の濃度はネズミの各組織における有機酸量[23]（フマール酸 0.6～14mg%，コハク酸 0.1～4mg%，乳酸 8～121mg%，クエン酸 0.1～5.3mg%，リンゴ酸 0.1～3.2mg% 等）にくらべれば数倍～数拾倍高く，カキ閉殻筋の乳酸含量[13] 20～70mg%，サザエ，カキ，バカガイ，アワビのコハク酸含量[14] 25～70mg% とほぼ同水準にあり，シジミ，ホタテ貝柱，アサリのコハク酸含量[14] 330～410mg%，カキの外套膜[4]におけるプロピオン酸 800mg%，グリセリン酸 760mg%，乳酸 460mg%，コハク酸 350 mg% にくらべれば著しく少ない。とくにカキの外套膜には著量のプロピオン酸が含まれるが，アコヤガイ，イケチョウガイの揮発酸は大部分が醋酸よりなりプロピオン酸は少ない。

3. アコヤガイにおける乳酸，揮発酸量の日週変化

筏より海中に籠吊りしたアコヤガイ（2年貝，7～12g）を2時間毎に5個づつとり，閉殻筋とその他の組織に分け乳酸，揮発酸濃度の日週変化を測定した（Fig. 1)。

閉殻筋の乳酸は昼間は約 12～20mg% であるが，夜間は約 19～32mg% を示し，最高と最低では2倍以上に増減する。閉殻筋以外の組織における乳酸は約 10mg% より 25mg% にわたつて変動したが，とくに夜明けから午前中にかけて増加する。また有機酸の大部分を占める揮発酸は昼間の約 160～250mg% に対し，夜間は約 320～400mg% に増加し明瞭な日週変化が認められる。

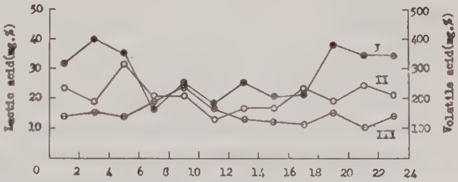


Fig. 1. Diurnal variation of the concentration of organic acids in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

Remarks: I ··Volatile organic acids (as acetic acid) in soft tissues (except the adductor muscle)
II ··Lactic acid in adductor muscle
III··Lactic acid in soft tissues (except the adductor muscle)

The experiment was carried out on the 10th～11th Nov. 1958. Water temp., 21～23°C.
Illustrated results show the average value of 5 specimens of pearl oyster (7～12g) respectively.

つぎに有機酸濃度の日週変化を他の生理作用における日週性と関連して検討する。アコヤガイは夜間，とくに日没直後盛んに移動するが，午前中に静止していること[24]，O_2 消費量は前夜半に最も多く，午前中は最も少ないこと[24]，グリコーゲン含量は昼多く，夜間は昼間の約半量に減少すること[24]，閉殻筋のうち平滑筋は昼弛緩し，夜間緊張すること[25]等が報告されているが，一般に夜間盛んに移動し，O_2 消費量も大きいことは代謝作用が活発に行なわれていることを意味し，その結果グリコーゲンの消耗，減少と有機酸の生成，増加をもたらすと考えられる。

貝体中の有機酸の増減は体液の H^+ イオン濃度の増減をもたらすであろうが，H^+ イオンは生体内における拡散，非拡散性 Ca の平衡を支配し[26]，また中和された有機酸塩（有機酸イオン）は in vitro で $Ca_3(PO_4)_2$,

$CaCO_3$ 等の見掛けの溶解積を増すことが報告されている[27)]。したがつて両貝の有機酸濃度（約 20～37 mM）が体液中の Ca イオン濃度（約 3～7 mM）にくらべて数倍高く，かつ有機酸濃度が昼夜で約 2 倍増減することは貝中に不溶，水溶，透析性等の状態で存在する Ca[28)] の平衡が有機酸の消長に伴なつて変化する可能性を示唆している。この可能性は大気に晒した貝中では解糖作用の結果生成された有機酸が貝殻の $CaCO_3$ を溶かし体液中の Ca 濃度を増加させること[22)]によつても支持される。したがつて真珠表面の aragonite 結晶に見られる成長，溶解の各過程を上述の生理作用，とくに有機酸濃度の日週変化と関連せしめて説明することは可能と思われる。

摘　　要

1) 貝類の Ca 代謝，とくに真珠表面の aragonite 結晶形に見られる成長，溶解現象におよぼす有機酸の影響を明らかにするために，まづアコヤガイ，イケチョウガイの各組織について，シリカゲルクロマトグラフィとペーパークロマトグラフィにより有機酸の定性，定量分析を行なつた。

2) アコヤガイ各組織より醋酸，プロピオン酸，乳酸，コハク酸，リンゴ酸，α-ケトグルタール酸，ピルビン酸と痕跡のフマール酸を検出し，イケチョウガイ各組織では上述の有機酸のうち，リンゴ酸を除く各酸と比較的多量のフマール酸を認めた。

3) アコヤガイでは外套膜より約 220 mg%，，その他の組織より 173～210 mg% の有機酸を，イケチョウガイでは閉殻筋より約 220 mg%，外套膜，鰓より約 200 mg% を，内臓より約 121 mg の有機酸を定量した。そのうち約 40～75% は揮発酸よりなる。

4) アコヤガイ貝体内の有機酸濃度は昼夜により変化し，乳酸と揮発酸量は昼夜を通じて約 2 倍の差を生ず。

終りに臨み本研究に対し終始懇篤な御指導を賜つた本学三宅正人教授，ならびに東京大学農学部富山哲夫教授に対し謹んで感謝の意を表する。なお本研究は文部省の科学研究費によつた。記して謝意を表する。

文　　献

1) WATABE, N.: Rep. Fac. Fish., Pref. Univ. Mie. **1**, 449 (1954).
2) ROBERTSON, J. D.: Biol. Rev., **16**. 106 (1941).
3) SOBOTKA, H. and S. KANN: J. Cell Comp. Physiol., **17**, 341 (1941).
4) HAMMEN, C. S. and K. M. WILBUR: J. Biol. Chem., **235**. 1268 (1959).
5) JODREY, L. H. and K. M. WILBUR: Biol. Bull., **108**, 346 (1955).
6) 東　怜・河合清三: 本誌，**25**, 222 (1959).
7) VAN GOOR, H.: Enzymologia, **13**, 73 (1948).
8) FREEMAN, F. A. and K. M. WILBUR: Biol. Bull., **94**, 55 (1948).
9) WILBUR, K. M. and N. G. ANDERSON: ibid., **98**, 19 (1950).
10) 辻井　禎・町井　昭: 科学，**23**, 148 (1953).
11) 生長清三: 本誌，**19**, 925 (1954).
12) WILBUR, K. M. and L. H. JODREY: Biol. Bull., **108**, 359 (1955).
13) 大谷武夫・富士川　澪: 軟体動物の化学，原生閣，東京 (1934), p. 45.
14) 青木　克: 日農化，**8**, 867 (1932).
15) 高木一郎・清水　亘: 1959 年 日本水産学会秋期大会において口頭発表.
16) BULEN, W.A., J.E. VARNER and R.C. BURRELL: Anal. Chem., **24**, 187 (1952).
17) 高井康雄: 日土肥，**28**, 435 (1958).
18) 井上吉之・野田万次郎: 日農化，**23**, 294 (1950); **23**, 368 (1950).
19) 柏田研一・柿本大壱・金沢昭夫: 本誌，**20**, 709 (1954).
20) CAVALLINI, D., N. FRONTALI and G. TOSHI: Nature, **163**, 568 (1949).
21) BARKER, S. B. and W. H. SUMMERSON: J. Biol. Chem., **138**, 535 (1941).
22) DUGAL, L. P.: J. Cell. Comp. Physiol., **13**, 235 (1939).
23) FROHMAN, C. E., J. M. ORTEN and A. H. SMITH: J. Biol. Chem., **193**, 277 (1951).
24) 森　圭一: 貝雑誌，**15**, 46 (1948).
25) 小林新二郎: 真珠の研究，**1** (2), (1950).
26) たとえば CLAGG, R. E. et al.: J. Biol. Chem., **219**, 447 (1956).
27) GREENWALD, I.: ibid., **124**, 437 (1938).
28) 堀口吉重: 本誌 **26**, 708 (1960)

アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—XII.
貝の血液および体液における $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ と $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛のイオン積について

堀　口　吉　重

(1960 年 2 月 27 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON *PTERIA (PINCTADA) MARTENSII* (DUNKER) AND *HYRIOPSIS SCHLEGELII* (v. MARTENS)—XII.
ON THE APPARENT ION PRODUCTS OF $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ AND $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ IN BLOOD AND TISSUE FLUIDS OF SHELL-FISH

Yoshishige HORIGUCHI*

It has generally been deduced that the calcification on bone formation is affected by the ionic concentration of Ca^{++}, $HPO_4^{=}$ and $PO_4^{\equiv}$ in blood and other tissue fluids. Similarly, the ionic concentration of Ca^{++}, HCO^{3-} and $CO_3^{=}$ in blood and tissue fluids of shell-fishes may be closely related to the deposition of $CaCO_3$ on shell.

The author determined the Ca^{++}, HCO_3^{-}, $CO_3^{=}$, $HPO_4^{=}$, $PO_4^{\equiv}$ and H^+ ions and the apparent ion products of $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ and $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ in blood and fluids of several tissues of pearl oyster, *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER), and of fresh water pearl oyster, *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS), were calculated. The results obtained are as follows.

1) As is shown in Tables 1 and 2, large quantities of the dialytic Ca and water soluble CO_2, with a small quantity of the inorganic P were found in the blood of fresh water pearl oyster and in the mantles of both shell-fishes.

2) The apparent ion products of $p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ and $p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ in the blood of fresh water pearl oyster were 6.26, 5.42 and 23.41, respectively, showing the values on a level with human blood. Similarly, the apparent ion products in the tissue fluids of both shell-fishes were 6.26～7.91 ($p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$), 4.41～5.42 ($p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$) and 21.56～23.89 ($p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$), respectively (Tables 3～6).

3) The apparent ion products of $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ in blood and mantle were higher than those in other tissues and those of $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ and $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ in blood and mantle were lower than those in other tissues. The above results on ionic concentration and the apparent ion products in several tissues are considered to be most suitable for excreting shell matter, especially calcium carbonate excretion, from the mantle of shell-fish.

骨化機構に関する研究によれば，骨塩の沈着，溶解は主に体液中の Ca, P, CO_2 等のイオン濃度と密接な関係を持つと考えられ，種々の条件下の溶液における $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$, $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$, $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ のイオン積が報告されている[1)]。また真珠表面に見られる aragonite 結晶の成長，部分溶解の現象も分泌液中の $CaCO_3$ 濃度の消長に関係すると推定されているが[2)]，貝の分泌液や体液における $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ のイオン積については明らかにされていない。

著者はさきに貝の分泌液中における $CaCO_3$ 濃度を変化せしめる一因子として貝体内における有機酸濃度

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, Japan).

の消長を仮定し，その日週変化について報告したが[3]，$CaCO_3$ 濃度におよぼす有機酸の影響を検討するためには貝中の Ca, CO_2 等のイオン濃度を明らかにしておく必要がある。

このためアコヤガイとイケチョウガイについて各形態の Ca, P, CO_2 量を測定するとともに，それぞれのイオン濃度と pH より $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$, $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛のイオン積を計算した。また各組織における上述のイオン積の分布と外套膜における $CaCO_3$ 分泌機能の関係について検討したので，それらの結果について報告する。

実 験 方 法

実験は 1958 年 7 月より 10 月の間に行なつた。試料貝は有機酸の測定に用いたのと同様の貝[3]を用い，アコヤガイは外套膜，鰓，内臓，閉殻筋について，イケチョウガイでは血液，外套膜，鰓について各形態の Ca, P, CO_2 および pH を測定した。

水溶性，不溶性フラクションの調製: 水槽からとり上げた貝は直ちに開殻し，各組織は沪紙で付着水を拭き去り，1～2g を秤量する。10 倍量の CO_2 を含まない冷水を加え，冷却しながら 10 分間ホモジェナイズする。3,000 r.p.m. で 5 分間遠心分離し，上澄液と沈澱に分つ。水溶性フラクションはすぐ氷冷し，不溶残渣は 2 回水洗後灰化し，熱 HCl にとかし，水にて定容する。

各形態の Ca，P の定量: 不溶性 Ca および P は前述の組織不溶物を灰化し，HCl にとかした液について Ca は柳沢法[4]，P は FISKE and SUBBAROW 法[5]によりそれぞれ比色定量する。水溶性全 Ca，非透析性 Ca は水溶性フラクションを調製後直ちに柳沢法により測定し，両 Ca の差より透析性 Ca を求めた。水溶性全-P，無機-P は水溶性フラクションについて FISKE and SUBBAROW 法によりそれぞれ比色定量する。血液は心臓より注射針にて採血し，CO_2 を含まない冷水で稀釈したのち，直ちに各形態の Ca, P を定量する。

各形態の CO_2 の定量: 菅原式水中 CO_2 測定装置[6]の一部を改造した装置を用い，軟組織中の CO_2 を $Ba(OH)_2$ 液に導いて $BaCO_3$ として沈澱せしめたのち，diphenyl carbazide 法[7]により比色定量する。軟組織に H_2SO_4 を加えて減圧，加温しながら CO_2 を発生せしめる際，同時にタングステン酸液を添加すれば発泡は抑制される。また試料をのぞくほかはすべて同条件で CO_2 を測定しブランク値を求め補正することが必要である。軟組織全体について測定した結果を総 CO_2 量とし，軟組織をホモジェナイズして水抽出した後の不溶性残渣について測定した値を不溶性 CO_2，両 CO_2 量の差を水溶性 CO_2 とした。

pH の測定: 各組織より得た水溶性フラクションの pH はガラス電極 pH メーターを用いて測定する。血液は少量しか得られないので，その pH は phenol red により呈色せしめ 550 および 420 mμ で比色して求める[8]。

$[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$, $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ イオン積の求め方:

$$pH = pK + \log\frac{[Anion]}{[Acid]}$$ により計算する。

$$pK = -\log K$$

ただし

$$H_2CO_3 \leftrightarrows H^+ + HCO_3^- \qquad pK_1 = 6.1$$
$$HCO_3^- \leftrightarrows H^+ + CO_3^= \qquad pK_2 = 9.8$$

$$H_3PO_4 \leftrightarrows H^+ + H_2PO_4^- \qquad pK_1 = 2.0$$ [9]
$$H_2PO_4^- \leftrightarrows H^+ + HPO_4^= \qquad pK_2 = 7.1$$
$$HPO_4^= \leftrightarrows H^+ + PO_4^{\equiv} \qquad pK_3 = 12.4$$

結果および考察

1. 軟組織における各形態の Ca, P, CO_2 量とその分布

イケチョウガイにおける各形態の Ca 量についてはすでに報告したが[10]，本実験においてアコヤガイ，イケチョウガイにおける各形態の Ca, P, CO_2 を測定し Table 1, 2 の結果を得た。

Table 1. Amounts of Ca, P and CO_2 in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

Tissue	Water insol. Ca	Water sol. Ca (p.p.m.)	Dialytic Ca	Water insol. P	Water sol. P (p.p.m.)	Inorg. P	Water insol. CO_2 (mM/1g wet tissue)	Water sol. CO_2 (mM/1g wet tissue)
Mantle	81.0	705.8	218.4	491.0	209.5	122.1	1.25	14.22
Gills	64.5	533.9	192.7	412.9	420.5	174.1	17.76	14.76
Viscera	138.5	374.3	166.7	732.3	1,138.4	490.0	0.61	5.73
Adductor muscle	123.3	250.4	150.4	452.3	1,477.2	624.4	0.44	8.41

Remark: The experiment was carried out on 5th Aug.～20th Sep. 1958.

Table 2. Amounts of Ca, P and CO_2 in each tissue of *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS).

Tissue	Water insol. Ca	Water sol. Ca (p.p.m.)	Dialytic Ca	Water insol. P	Water sol. P (p.p.m.)	Inorg. P	Water insol. CO_2 (mM/1g wet tissue)	Water sol. CO_2 (mM/1g wet tissue)
Mantle	1,407.6	511.1	194.3	992.7	696,4	154.4	8.6	14.5
Gills	17,471.0	419.1	169.2	13,869.0	974.6	256.1	149.9	15.5
Blood	0	321.0	186.0	0	122.5	42.5	0	42.6

Remark: The experiment was carried out on the 20th Sep.-20th Nov. 1958.

分別操作により各形態の Ca, P, CO_2 はある程度の影響を受けるであろうが[10]，各組織はいづれも同様条件下に処理したので，その影響が等しいとすれば，測定結果は相対的に比較することができると思われる。表中の数字は 2～4 個の貝について得られた結果を示す。

アコヤガイ各組織における Ca は約 370～800 p.p.m. であり，そのうち約 66～90% は水溶性 Ca よりなり，さらにそのうち約 31～60% は透析性 Ca として存在した。各組織中外套膜はとくに不溶性 Ca が少なく，水溶性非透析および透析性 Ca はいづれも多い。イケチョウガイでは Ca は約 1,900～18,000 p.p.m. でアコヤガイにくらべて多いが，そのうち不溶性 Ca が約 73～98% を占めるので，水溶性全 Ca および透析性 Ca はアコヤガイとほぼ同水準にある。

アコヤガイ各組織の P は約 700～1,900 p.p.m. の間にあり，そのうち約 40～53% は無機-P として存在する。イケチョウガイの P は約 1,690～15,000 p.p.m. 含まれ，Ca と同様にアコヤガイより多いが，不溶性 P が大部分を占めるので無機-P 量はアコヤガイとほぼ同水準にある。

アコヤガイ各組織の CO_2 は 1g につき約 6～32 mM が定量されたが，約 5～55% は不溶性 CO_2 よりなり，とくに鰓に多い。水溶性 CO_2 は鰓と外套膜に多い。イケチョウガイ各組織の CO_2 は 1g につき約 23～165 mM 含まれ，Ca, P の場合と同様にアコヤガイより多いが，約 37～90% は不溶性 CO_2 よりなるので水溶性 CO_2 量はアコヤガイと同水準にある。

両貝の pH は明らかに相違し，アコヤガイは微酸性 (pH 6.51～6.70) を呈するが，イケチョウガイでは微アルカリ性 (pH 7.28～7.30) を示し，人の血液 (pH 7.35～7.45) に近い。中性付近の淡水に棲息するイケチョウガイの体液が微アルカリ性を示すに対し，微アルカリ性 (pH 8.2～8.3) の海水に棲息するアコヤ

ガイが微酸性を呈する理由は明らかでないが，$CaCO_3$, $Ca_3(PO_4)_2$ はアルカリ性に傾くほど沈澱しやすいので，Ca の少ない淡水に棲息するイケチョウガイの体液が微アルカリ性を保つのは貝体内に Ca を貯蔵するために好都合である。アコヤガイ体液の pH が微酸性を示すことはすでに八坂等[17]により報告されている。

貝の外套膜における alkaline phosphatase の activity や，^{32}P の集積，分布結果より P および phosphatase は貝が環境水より Ca を吸収し，集積する機能に関係すると考えられており[11-14]，著者もまたイケチョウガイに吸収された ^{45}Ca の大部分が不溶性 ^{45}Ca として鰓に集積されること，同貝の鰓に多量の不溶性 Ca, P, CO_2 が存在することより鰓における Ca の活発な集積能は P, CO_2 による Ca の不溶化機能と密接に関係すると考えた[10]。

しかしながら上述の推定は不溶性 Ca, P, CO_2 の関係についてのみ適用されるものであり，両貝の各組織においては後述するごとく水溶性全 P，水溶性無機-P の少ない組織ほど水溶性全 Ca，透析性 Ca が多く，またアコヤガイに吸収された ^{45}Ca は組織の水溶性全 P，水溶性無機-P 量に比例して分布されないので[15]，Ca の集積に対する P の役割は複雑である。本実験の結果では P イオンはむしろ Ca イオンを低下させる機能を示している。

両貝の各組織における水溶性 Ca, P, CO_2 の分布については興味ある結果を得た。すなわち透析性 Ca はアコヤがイでは外套膜＞鰓＞内臓＞閉殻筋の順に多いが，水溶性無機-P は透析性 Ca の分布と全く逆の傾向を示した。水溶性 CO_2 は両貝ともに鰓と外套膜に多く，またイケチョウガイの血液中の透析性 Ca (186 p.p.m.) は鰓と同水準にあるが，無機-P (43 p.p.m.) はきわめて少なく，水溶性 CO_2 (43 mM) は著しく多い。貝殻物質の分泌器官である外套膜と貝殻物質の貝体内運搬，補給に関係すると考えられる血液において，透析性 Ca と水液性 CO_2 が各組織中比較的多く，無機-P が少ないことは外套膜が $Ca_3(PO_4)_2$ をほとんど分泌せず，$CaCO_3$ を分泌する機能に適合している。

2. 血液および組織抽出液における $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ と $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積

骨化の機序については多くの報告があるが，LOGAN 等[1]によれば，骨はまづ $CaHPO_4$ の集合体を生じ，$Ca_3(PO_4)_2$ として沈澱する。つぎにこの沈澱が主体となつて Ca^{++}, HCO_3^-, $HPO_4^{=}$, $PO_4^{\equiv}$, OH^- 等のイオンを吸収して巨大分子を形成すると考えられている。$Ca_3(PO_4)_2$ が沈澱するための一条件として液中の Ca^{++}, $HPO_4^{=}$, $PO_4^{\equiv}$ のイオン濃度が $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$, $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の溶解度積を越えて飽和すれば $Ca_3(PO_4)_2$ が沈澱すると考え，種々の溶液中におけるそれらのイオン積が測定された。その結果によれば，溶液に添加される骨，appatite 等の固形物量の多少により溶解度積は変化し，$p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ は固形相の多い溶液では 26.5～27.75[1] を示し，固形相が少ないと 22.17～23.47[1] に変化し，血清中では 23.1～23.4[1] である。また $p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ は固形相の少ない溶液では 5.59～5.60[1]，血液中では 5.67 であり，小量の固形相を含む液の $p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ は 7.1[1] であり，人血では 6.61 を示す。

貝殻形成において $CaCO_3$ の沈着，溶解も骨塩の場合と同様に体液中の Ca, CO_2 等のイオン濃度に支配されると考え，貝の各組織における $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ と $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$, $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積を測定した。貝の軟組織中の体液はそのままでは組織より分離し難いので，一定の条件下において組織ホモジェネートを冷水抽出した液について Ca, P を定量し，その結果より組織中のイオン濃度を計算した。前述の方法により得られた透析性 Ca，無機-P，水溶性 CO_2 は無機イオンの他に一部の有機化合物(たとえば adenosine triphosphate) 等も含まれるであろうが全量が無機イオンとして存在すると仮定し，Table 1, 2 の結果と組織中の水分含量を基礎として各組織におけるイオンのモル濃度を計算し，ついで前述の解離恒数を用いて各 pH における HCO_3^-, $CO_3^{=}$, $HPO_4^{=}$, $PO_4^{\equiv}$ のイオン濃度を求め $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$, $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$, $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積，イオン指数を得た (Table 3～6)。

アコヤガイ各組織の $p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ は 7.23～7.91 で見掛けのイオン積は外套膜＞鰓＞閉殻筋＞内臓の順であるが，$p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ は 4.41～5.11; $p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ は 22.67～23.89 で，それぞれの見掛けのイオン積は，閉殻筋＞内臓＞鰓＞外套膜の順である。イケチョウガイでは $p[Ca^{++}]\times$

Table 3. Apparent ion product of $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

Tissue	pH	Ca (mM)	CO_2 (mM)	$[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$	$p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$*
Mantle	6.65	6.407	16.61	5.878×10^{-8}	7.23
Gills	6.70	5.342	16.41	5.565× 〃	7.25
Viscera	6.51	4.893	6.73	1.216× 〃	7.91
Adductor muscle	6.61	5.486	12.01	3.250× 〃	7.48

Remark: * $p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}] = \log\dfrac{1}{[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]}$

Table 4. Apparent ion products of $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ and $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

Tissue	pH	Ca (mM)	P (mM)	$[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$	$p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$*	$[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$	$p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$**
Mantle	6.65	6.407	4.634	7.778×10^{-6}	5.11	1.218×10^{-24}	23.89
Gills	6.70	5.342	6.240	8.125× 〃	5.09	1.404× 〃	23.85
Viscera	6.51	4.893	18.597	1.861×10^{-5}	4.73	2.681× 〃	23.57
Adductor muscle	6.61	5.486	28.774	3.859× 〃	4.41	2.153×10^{-23}	22.67

Remarks: * $p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}] = \log\dfrac{1}{[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]}$

** $p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2 = \log\dfrac{1}{[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2}$

Table 5. Apparent ion product of $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ in each tissue of *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS).

Tissue	pH	Ca (mM)	CO_2 (mM)	$[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$	$p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$*
Mantle	7.30	5.700	17.10	2.837×10^{-7}	6.55
Gills	7.30	4.964	18.20	2.630× 〃	6.58
Blood	7.28	4.638	42.6	5.491× 〃	6.26
Human blood	7.40	2.500	27.0	2.480× 〃	6.61

Remark: * $p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}] = \log\dfrac{1}{[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]}$

Table 6. Apparent ion products of $[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$ and $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ in each tissue of *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS).

Tissue	pH	Ca (mM)	P (mM)	$[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$	$p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$*	$[Ca^{++}]^9\times[PO_4^{\equiv}]^2$	$p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$**
Mantle	7.30	5.700	5.859	2.047×10^{-5}	4.69	1.507×10^{-22}	21.82
Gills	7.30	4.964	9.719	2.958× 〃	4.53	2.740× 〃	21.56
Blood	7.28	4.638	1.371	3.831×10^{-6}	5.42	3.914×10^{-24}	23.41
Human blood	7.40	2.500	1.270	2.115× 〃	5.67	1.116× ×	23.95

Remarks: * $p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}] = \log\dfrac{1}{[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]}$

** $p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2 = \log\dfrac{1}{[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2}$

$[CO_3^{=}]$ は 6.26～6.61 で見掛けのイオン積は血液＞外套膜＞鰓の順であるが，$p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$，$p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ はそれぞれ 4.53～5.42，21.56～23.41 でいづれも鰓＞外套膜＞血液の順である。

アコヤガイとイケチョウガイにおける $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$，$[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛のイオン積は同様処理を施して測定したにもかかわらず，いづれも明らかな相違が認められ，イケチョウガイにおける見掛のイオン積が高い結果を得た。これらの見掛けの溶解度積は LOGAN 等[1] の結果に示されるごとく，溶液中の固形量の相違により相当大きく変動するので，貝体液において $CaCO_3$，$Ca_3(PO_4)_2$ を沈澱させるに必要なこれらのイオン積も両貝の各組織を通じて一定した値を示すとは限らない。したがつて得られた結果より各組織における Ca, P, CO_2 のイオン濃度が飽和状態にあるか否かは明らかでないが，仮に両貝ともに同一水準のイオン積において $CaCO_3$，$Ca_3(PO_4)_2$ が沈澱するとすれば，上述の結果よりイケチョウガイはアコヤガイにくらべ $CaCO_3$，$Ca_3(PO_4)_2$ を沈澱させやすいことは容易に推定されるし，イケチョウガイに多い不溶性 Ca, P, CO_2 の存在もイオン積の結果より説明することができる。

また貝組織における $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛のイオン積は骨塩沈澱における場合のイオン積に近似し，人血と同水準またはそれより高い結果を得た。したがつて骨が $Ca_3(PO_4)_2$ を主成分として沈着するのと同様に貝体内においても，とくにイケチョウガイの鰓に見られるごとき大量の不溶性 Ca, P が CO_2 とともに沈着するのは当然であろう。

両貝の各組織における $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$，$[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積はそれらのイオン濃度の分布と同様に，外套膜における $CaCO_3$ の分泌機能と関連して注目すべき結果を得た。もし貝殻を構成する無機物質が外套膜における無機物質の濃度に比例して外套膜より分泌され，貝殻に沈着するとすれば，外套膜における $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の見掛けのイオン積が各組織中最も高いことは外套膜が $CaCO_3$ を分泌する上にきわめて好都合であり，貝殻が主に $CaCO_3$ よりなる理由の一部を説明することができる。他方，外套膜における $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積は各組織を通じ最も低いので，外套膜は他組織にくらべ $Ca_3(PO_4)_2$ を最も分泌し難いことになる。

しかしながら外套膜における $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積は人血のそれにくらべれば同水準またはそれより高いイオン積を示すので，骨化の場合と同様に貝殻は $CaCO_3$ とともに $Ca_3(PO_4)_2$ も相当量沈着する可能性がある。

しかるに貝殻には P が微量しか含まれず，しかもそのうちの無機-P はさらに小部分をしめるにすぎないので[16]，外套膜における $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積の測定結果より貝殻に P がほとんど含まれない理由を満足に説明することはできない。

これらの結果より貝殻の形成において $CaCO_3$ の沈着は外套膜におけるそれらのイオン濃度に支配されるが，$Ca_3(PO_4)_2$ の沈着は外套膜中のそれらのイオン濃度と直接的関係をもたないことが推論される。外套膜中の P イオンは Ca, CO_2 イオンにくらべて外套膜より貝殻上に分泌され難いことを暗示しているので貝における ^{32}P の代謝を測りこれを確めた実験についてはつぎの機会に報告したい (14 報)。

摘　　要

1) アコヤガイ，イケチョウガイの血液，組織について pH，各形態の Ca, P, CO_2 量を測定した。

2) 両貝の外套膜，イケチョウガイの鰓には水溶透析性 Ca，水溶性 CO_2 が各組織中最も多く，水溶性無機-P は最も少ない。

3) イケチョウガイ血液における $p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$，$p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$，$p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積はそれぞれ 6.26，5.42，23.41 を得た。この値は人の血液におけるそれらの値とほぼ同水準にある。また両貝の各組織液における $p[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$，$p[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$，$p[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積はそれぞれ 6.26～7.91，4.41～5.42，21.56～23.89 であるが，一般にイケチョウガイにおける見掛けのイオン積が高い。両貝とも各組織中外套膜の $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の見掛けのイオン積が最も高く，$[Ca^{++}]\times[HPO_4^{=}]$，$[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛けのイオン積が最も低い。

4) 各組織，血液における Ca, P, CO_2 のイオン濃度と上述のイオン積の分布は外套膜が $CaCO_3$ を分泌するのに最も都合がよく，$Ca_3(PO_4)_2$ を分泌し難いことを示している。

終りに臨み本研究に対し終始懇篤なる御指導を賜つた本学三宅正人教授，ならびに九州大学農学部富山哲夫教授に対し謹んで感謝の意を表する。なお本研究は文部省科学研究費によつた。記して謝意を表する。

文　　献

1) たとえば LOGAN, M. A. and H. L. TAYLOR: J. Biol. Chem., **119**, 293 (1937); **125**, 377 (1938).
2) WATABE, N.: Rep. Fac. Fish., Pref. Univ., Mie, **1**, 449 (1954).
3) 堀口吉重: 本誌 **26**, 695 (1960).
4) 柳沢文正: 綜合医学, **8**, 530 (1951).
5) FISKE, C. H. and Y. SUBBAROW: J. Biol. Chem., **66**, 375 (1925).
6) 三宅泰雄・松井秀夫: 水の化学分析法, 地人書館, 東京 (1943), pp. 112〜119.
7) EXTON, W. G., F. SCHATTNER and A. R. ROSE: Am. J. Clin. Path., **11**, 632 (1941).
8) 斎藤正行: 光電比色計による臨床化学検査, 南山堂, 東京 (1955), pp. 218〜221.
9) GREENWALD, I.: J. Biol. Chem., **124**, 437 (1938).
10) 堀口吉重: 三重県大水産学部紀要, **3**, 391 (1959).
11) BEVELANDER, G.: Biol. Bull., **102**, 9 (1952).
12) KADO, Y.: J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B, **15**, 1 (1954).
13) 小島吉雄・生長清三: 動雑, **63**, 26 (1954).
14) ASANO, M. and M. ITO: Tohoku J. Agr. Res., **7**, 291 (1956).
15) 堀口吉重: 三重県大水産学部紀要, **3**, 381 (1959).
16) ————: 本誌, **25**, 397 (1959).
17) 八坂茂・田畑義明・高島晋: 長崎大水産学部研究報告, 3, 39 (1955).

アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—XIII. 貝の Ca イオン濃度におよぼす有機酸の影響

堀 口 吉 重

(1960 年 2 月 29 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON *PTERIA (PINCTADA) MARTENSII* (DUNKER) AND *HYRIOPSIS SCHLEGELII* (v. MARTENS)—XIII. EFFECTS OF THE ORGANIC ACIDS UPON THE CONCENTRATION OF Ca ION IN SHELL-FISH

Yoshishige HORIGUCHI*

N. WATABE[1] suggested that the nacreous layer of pearl is formed by the repeated crystallization, partial dissolution and recrystallization which caused the change of $CaCO_3$ concentration in the secreting fluid of shell-fish.

To clarify the cause of this variation, the author investigated the solubilities of $CaCO_3$ and $CaHPO_4$ in several organic acids and their salt solutions. The variation of Calcium compounds in several tissue of shell-fish when the solutions of organic acid salts were injected into adductor muscle was also examined. The following results were obtained.

1) As is shown in Figure 1, irregularity was found on the solubilities of $CaCO_3$ and $CaHPO_4$ in several organic acids and their salt solutions.

2) The greater part of the calcium acetate and sodium lactate which were injected into the adductor muscle of pearl oyster, *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER), was found in the gills and in the mantle after 10 minutes to 1 hour (see Fig. 3).

3) By the injection of sodium acetate and sodium lactate in the adductor muscle of pearl oyster or in the viscera of fresh water pearl oyster, *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS), the increase of water soluble Calcium, especially of dialytic one was found in the gills and mantle, but no increase of inorganic phosphorus was found in those tissues (see Tables 1, 2).

4) It was presumed that the diurnal variation of the concentration of organic acids in shell-fish affects the concentration of dialytic calcium in mantle and accelarates the crystallization and partial dissolution of aragonite crystal on the shell and pearl.

前報において紹介したごとく，真珠は分泌液中の $CaCO_3$ 濃度の増減にともなって aragonite 結晶の成長，一部溶解，再結晶をくり返しながら成長すると考えられている[1]。

著者は貝体液中の $CaCO_3$ 濃度の消長に関係する一因子として有機酸を仮定し，貝の諸生理作用の日週変化に伴なって増減する有機酸濃度の変化について報告した[2]。さらに有機酸濃度の変動が貝体内の Ca 化合物の平衡を支配し，Ca イオン濃度を変化せしめることを認めたので，それらの結果について報告する。

実験方法および結果

1. 醋酸，乳酸，コハク酸およびそれらのソーダ塩液における $CaHPO_4$，$CaCO_3$ の溶解度

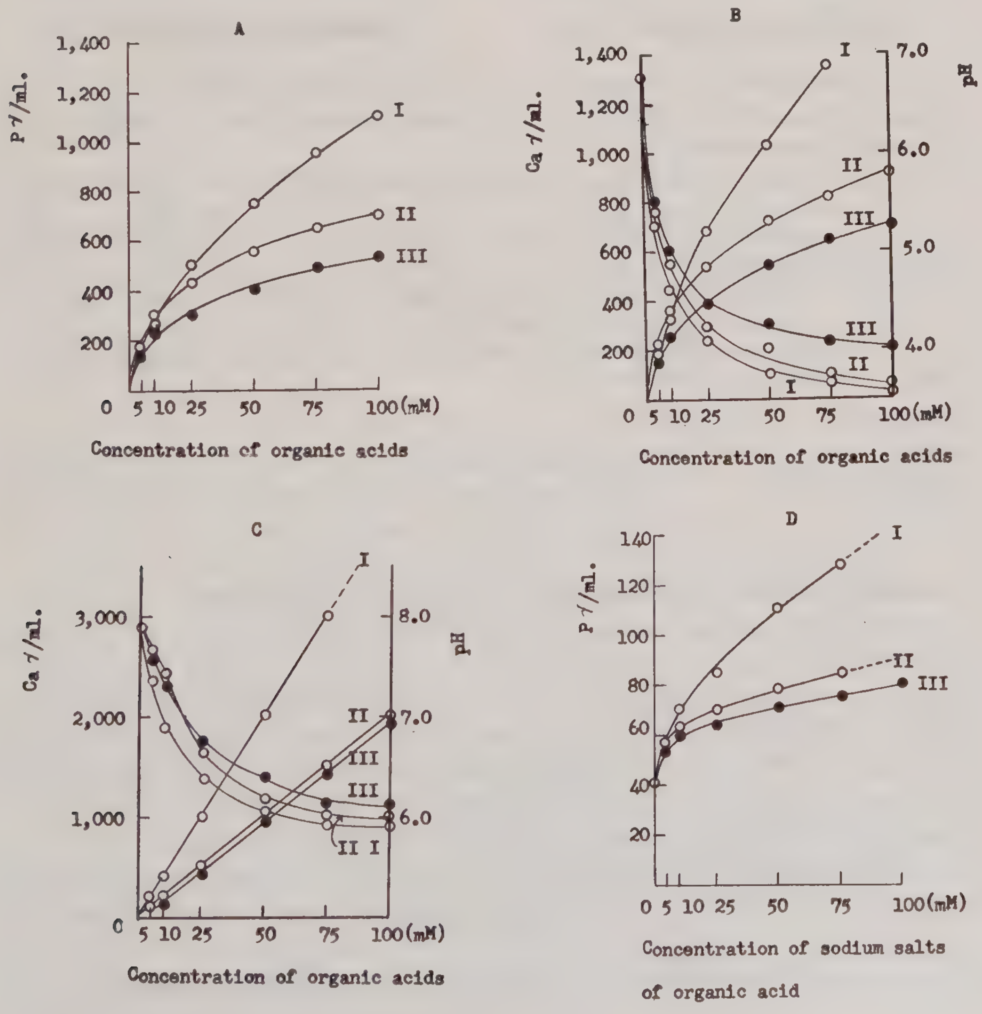
アコヤガイ，イケチョウガイには比較的多量の有機酸が含まれ，かつ有機酸濃度は昼夜により約2倍の増減を示すので，有機酸濃度の増加は貝中に含まれる不溶性 Ca, P, CO_2 の溶解をもたらすであろう。この推

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, Japan).

定を確実にするための基礎実験として貝に比較的多く含まれる醋酸，乳酸，コハク酸の種々の濃度の溶液における $CaHPO_4$, $CaCO_3$ の溶解度を測定した。

50 ml 容のメスフラスコに $CaHPO_4$, $CaCO_3$ 粉末をそれぞれ 1g づつ入れ，別に調製した 5, 10, 25, 50, 75 および 100 mM の醋酸，乳酸，コハク酸溶液を加え 50 ml に定容する。ときどき振りながら 25～26°C の恒温箱におき，一夜静置後上澄液について Ca, P, pH を前報[3] にのべた方法により測定し Fig. 1 (A, B, C) の結果を得た。有機酸の代りにそれぞれの有機酸ソーダ塩液を加えて同様に処理し Fig. 1 (D, E, F) の結果を得た。

5～100 mM の醋酸，乳酸，コハク酸溶液はいづれも $CaHPO_4$, $CaCO_3$ の液解度を増加させるが，その影響は一様でない。コハク酸は一塩基酸にくらべ同モル溶液において約 2 倍の Ca を溶解する。一塩基酸のうち乳酸は醋酸よりも $CaHPO_4$ をよく溶解するが，$CaCO_3$ に対しては両酸に差が見出せない。また $CaHPO_4$, $CaCO_3$ の溶解度は有機酸濃度の増加に伴なつて高くなる。そのうち $CaCO_3$ の溶解度は有機酸濃度の増加に比例して直線的に増大するが，$CaHPO_4$ の溶溶解度は有機酸濃度が高くなるにしたがつてその増加率は減少する。なお $CaHPO_4$ の溶解において水溶性 Ca と P は等モルづつ増加することが認められる。



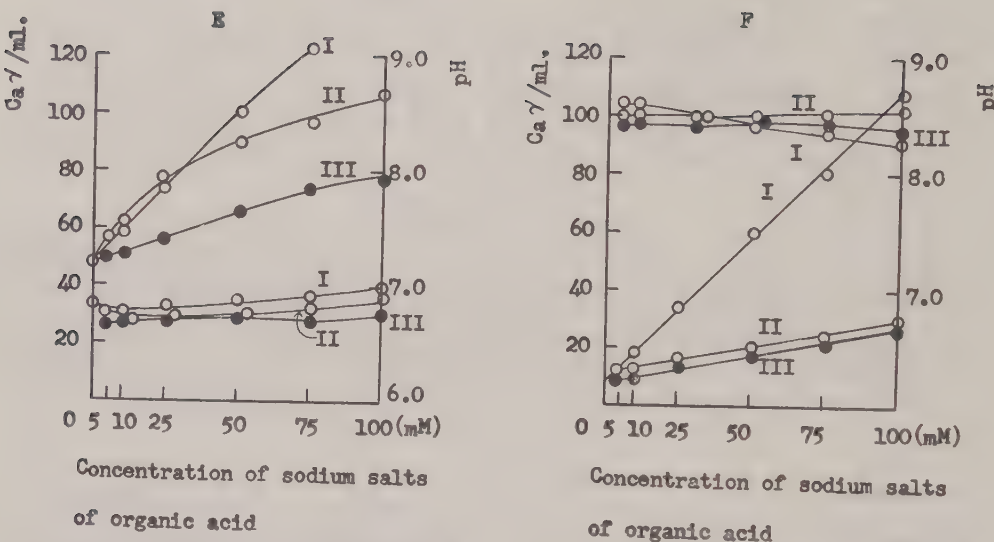


Fig. 1. Change of solubilities of $CaHPO_4$, $CaCO_3$ in several organic acids and their sodium salt solutions.

A, B: Change of solubilities of $CaHPO_4$ in succinic acid (Ⅰ), lactic acid (Ⅱ) and acetic acid solutions (Ⅲ).

C: Change of solubilities of $CaCO_3$ in succinic acid (Ⅰ), lactic acid (Ⅱ) and acetic acid solutions (Ⅲ).

D, E: Change of solubilities of $CaHPO_4$ in sodium succinate (Ⅰ), sodium lactate (Ⅱ) and sodium acetate solutions (Ⅲ).

F: Change of solubilities of $CaCO_3$ sodium succinate (Ⅰ), sodium lactate (Ⅱ) and sodium acetate solutions (Ⅲ).

有機酸ソーダ塩液は $CaHPO_4$, $CaCO_3$ の溶解度に対しそれぞれの有機酸によく似た傾向の影響を与えるが，有機酸と異なり $CaCO_3$ よりも $CaHPO_4$ をよく溶解する。しかしその効果は同モル濃度の有機酸にくらべ著しく弱い。

2. 貝の組織ホモジェネートにおける各形態の Ca, P 平衡におよぼす有機酸の影響

種々の濃度の有機酸，有機酸塩溶液における $CaHPO_4$, $CaCO_3$ の溶解度を測定することにより有機酸濃度の日周変化に伴なう水溶性 Ca 量の変化を推測することができるが，さらに貝の組織ホモジェネートに貝体内で変化する程度の有機酸量を添加することにより各形態の Ca, P 量におよぼす有機酸の影響を検討した。

アコヤガイの全組織とイケチョウガイの外套膜，鰓に 10 倍量の 0, 10, 50 および 100 mM の有機酸液を加えてホモジェナイスし，遠心分離して上澄液と残渣に分つ，両フラクションについて不溶性，水溶性 Ca および P，無機-P を測定し Fig. 2 (A, B, C, D) の結果を得た。

有機酸の添加により一般に組織中の不溶性 Ca, P は減少し，水溶性 Ca, P は増加する。

アコヤガイでは有機酸の添加により水溶性 Ca, P は増加するが，この変化は約 10 mM の有機酸の添加により容易におこり，その後は 100 mM まで有機酸濃度を増加せしめても各形態の Ca, P 量はほとんど変化しない。

イケチョウガイの外套膜では有機酸添加による不溶性 Ca, P の減少と水溶性 Ca, P の増加は約 50 mM の有機酸溶液においても認められ，さらに鰓では 100 mM の有機酸液においても変化しつづけた。なおアコ

ヤガイにくらべ有機酸の添加によるイケチョウガイの水溶性 Ca の増加は著しく，水溶性 P にくらべ約2倍の比率で増加した。また水溶性全 P の増加は外套膜，鰓ともに大部分は無機-P の形で行なわれた。

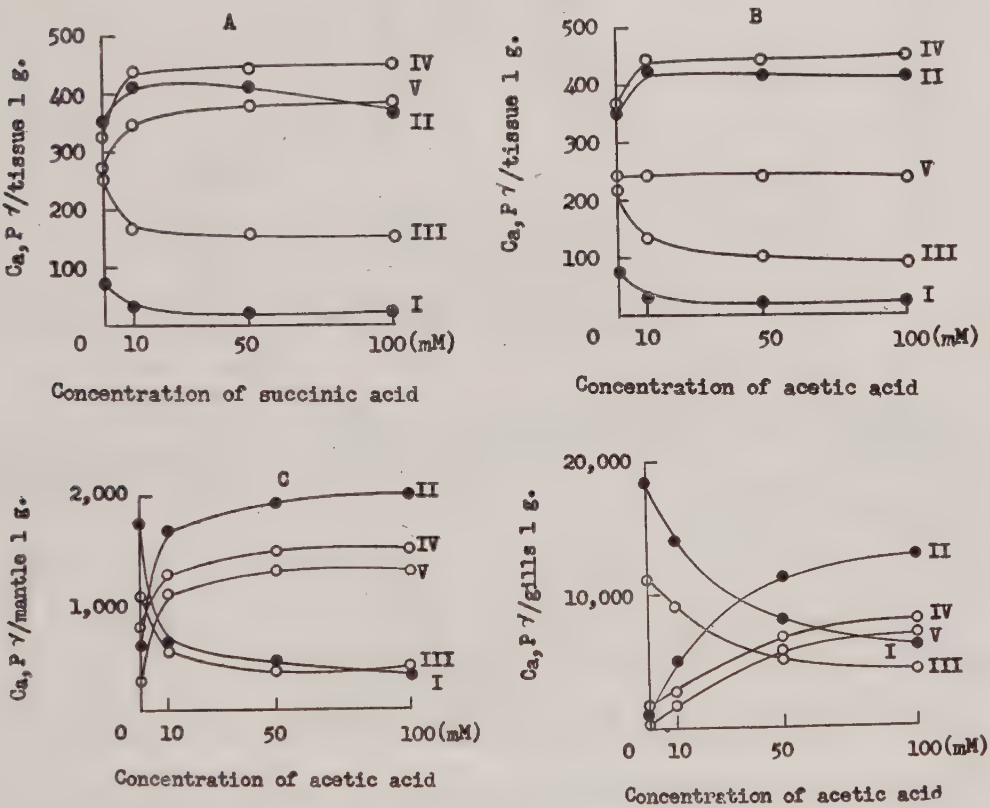


Fig. 2. Variation of the solubilities of Ca and P compounds in tissue homogenates of shell-fishes by the addition of organic acids.

A, B: Whole tissues of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

C, D: Mantle (C) and gills (D) of *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS),

I····Water insoluble Ca, II····Water soluble Ca, III····Water insoluble P, IV····Water soluble P, V····Inorganic P.

3. 閉殻筋に投与した有機酸塩の貝体内分布

貝に有機酸を投与した場合，貝体中に不溶性 Ca が過剰に存在すれば，有機酸は不溶性 Ca を溶解するので水溶性 Ca の増加はほぼ有機酸濃度の増加に比例すると考えられる。この推定を確めるための予備実験としてまず貝に注射された有機酸塩が各組織に出現する状況を検討した。

3年生アコヤガイ (25～30g) 12 個について予め pH 7.0 に調節した 20% 醋酸カルシウム液 1 ml，または 10% 乳酸ソーダ液 1 ml を閉殻筋に注射し，直ちに海水に入れ 10 分，1および5時間後に2個づつとり上げ外套膜，鰓，内臓，閉殻筋に分ち，前報[2] と同様の方法にしたがい各組織に分布された醋酸，乳酸量を測定し Fig. 3 (A, B) の結果を得た。

閉殻筋に投与された有機酸塩は速かに各組織に出現し，10 分～1 時間でほぼ最高に達するが，とくに鰓と外套膜における有機酸の増加が著しい。

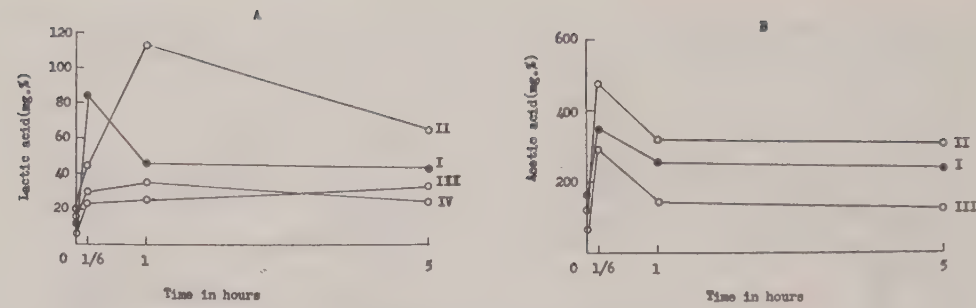


Fig. 3. Distribution of organic acids in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER) after injection of the organic acid salts into adductor muscle.
A····1 m*l* of 10 per cent sodium lactate solution was injected into the adductor muscle of the shell-fish (25～30g).
B····1 m*l* of 20 per cent calcium acetate solution was injected into the adductor muscle of the shell-fish (20～30 g).
Ⅰ····Mantle, Ⅱ····Gills, Ⅲ····Viscera, Ⅳ····Adductor muscle.

4. 有機酸塩投与による貝の各組織における各形態の Ca, P 量の変化

有機酸塩を投与されたアコヤガイは鰓と外套膜に最も多くの有機酸を集積したが，有機酸塩を投与された貝の各組織における各形態の Ca, P 量の消長を有機酸集積量と比較することにより Ca 化合物に対する有機酸の影響を検討しようと試みた。

アコヤガイ (25～30g) 4個を用い，閉殻筋に 20% 醋酸ソーダ液 1 m*l* または 10% 乳酸ソーダ液 1 m*l* を注射し，海水に入れ 10 分後にとり上げ各組織における各形態の Ca, P 量を測定する。またイケチョウガイ (約 200g) 2個を用い，内臓に 20% 醋酸ソーダ液 2 m*l* を注射し，水に入れ，10 分後にとり上げ各組織の Ca, P をアコヤガイの場合と同様に測定する。結果は Table 1, 2 に示す。

Table 1. Variation of the Ca and P compounds in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER) by the injection of sodium acetate and sodium lactate.

Injectant	Tissue	Water soluble Ca (γ/1g wet tissue)	Dialytic Ca (γ/1g wet tissue)	Inorg. P (γ/1g wet tissue)
Control	Mantle	527.1～833.3	247.1～289.6	127.0～170.0
	Gills	467.6～613.0	226.6～229.8	179.4～216.3
	Viscera	244.8～398.1	167.2～181.8	439.7～560.8
	Adductor muscle	206.3～278.4	158.7～163.2	595.2～618.0
Sodium acetate*	Mantle	905.0	655.0	190.0
	Gills	750.8	584.1	214.7
	Viscera	192.4	140.7	525.8
	Adductor muscle	507.1	310.7	653.5
Sodium lactate**	Mantle	553.5	403.0	195.0
	Gills	548.4	402.4	274.2
	Viscera	265.6	217.6	351.6
	Adductor muscle	408.2	316.4	612.2

Remarks:
* 1 m*l* of 20 per cent sodium acetate was injected into the adductor muscle of shell-fish (25～30g) and each tissue was extirpated after 20 minutes for analysis.
** 1 m*l* of 10 per cent sodium lactate was injected into the adductor muscle of shell-fish (25～30g) and each tissue was extirpated after 10 minutes for analysis.

Table 2. Variation of the Ca and P compounds in each tissue of *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS) by the injection of sodium acetate.

Injectant	Tissue	Water soluble Ca (γ/1g wet tissue)	Dialytic Ca	Insol. Ca	Water soluble P (γ/1g wet tissue)	Inorg. P	Water insol. P
Control	Mantle	602.1	264.9	1,667.0	650.1	121.8	1,350.6
	Gills	441.8	127.4	18,810.0	781.2	280.1	13,043.5
	Blood	300.5	241.0	0	125.0	45.0	0
Sodium acetate*	Mantle	564.3	346.1	1,593.8	801.2	105.2	1,458.3
	Gills	709.7	201.3	16,444.4	651.3	229.1	11,388.9
	Blood	360.1	290.0	0	87.5	45.0	0

Remark: * 2 m*l* of 20 per cent sodium acetate was injected into the viscera of shell-fish (about 200g) and each tissue was extirpated after 10 minutes.

アコヤガイの閉殻筋に醋酸ソーダ，乳酸ソーダ液を投与すると，10 分後においてすでに各組織の水溶性 Ca が増加するが，とくに外套膜，鰓の透析性 Ca は約 2 倍に増加した。これに対しアコヤガイ各組織の水溶性無機-P はほとんど変化しない。

イケチョウガイの内臓に醋酸ソーダを投与すると，10 分後において外套膜，鰓，血液の水溶性 Ca，透析性 Ca は相対的に増加し，外套膜，鰓の不溶性 Ca は減少する。また P の変化は著しくない。

考　　察

GREENWALD[4] は種々の有機酸塩溶液における $[Ca^{++}]^3\times[PO_4^{\equiv}]^2$, $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ 等の見掛けの溶解度積を測定した結果，それらの溶解度積は有機酸の種類によつて著しい差を生ずることより，生体内における有機酸の変化はそれらの見掛の溶解度積を変化させ，Ca 塩の沈着，溶解に関係する可能性を指摘している。

貝体内には脊椎動物（ネズミ[5]）にくらべ数倍～数拾倍の有機酸が存在し[2]，かつその濃度変化が激しいので，貝体内においては有機酸の種類および濃度の変化に伴なう上述の反応は脊椎動物にくらべ，より以上活潑に行なわれると考えられる。

著者は貝殻形成における有機酸の機能を明らかにするために貝体内の Ca 化合物の溶解度におよぼす有機酸の影響について検討した。すでに報告したごとく[2]，貝体内の有機酸濃度は昼夜により変化し，アコヤガイの閉殻筋における乳酸は最高と最低では約 18 mg％（約 2 mM），閉殻筋を除く軟組織の揮発酸は約 200 mg％（約 34 mM）の差があり，全有機酸ではさらに大きい濃度変化が推測される。一方，貝体内の不溶性 Ca の一部は燐酸塩，炭酸塩として存在すると推定されるので[3),6),7]，予備実験として貝に比較的多い醋酸，乳酸，コハク酸およびそれらのソーダ塩液における $CaHPO_4$, $CaCO_3$ の溶解度を測定した。

その結果によれば，同濃度の有機酸溶液では $CaCO_3$ は $CaHPO_4$ より溶解されやすいが，有機酸塩溶液では $CaHPO_4$ が溶解されやすい。またコハク酸とそのソーダ塩液は他の一塩基酸とそれらのソーダ塩液にくらべれば，それぞれ約 2 倍の Ca を溶解せしめた (Fig. 1)。これらの測定結果より推測して，若し貝体内に過剰の $CaHPO_4$, $CaCO_3$ が存在すれば，10 mM の有機酸濃度の増加により約 50～200 mg％（約 13～50 mM）の Ca が水溶化される可能性がある。したがつて有機酸濃度の変化に伴なう水溶性 Ca の消長は貝体内に存在する不溶性 Ca 量と密接な関係があり，不溶性 Ca の少ないアコヤガイの軟組織ホモジェネートに 10 mM の有機酸を添加すると不溶性 Ca は痕跡となり，したがつてそれ以上有機酸濃度を増しても水溶性 Ca は増加しないが，不溶性 Ca の多いイケチョウガイの外套膜は 50 mM まで，鰓は 100 mM の有機酸濃度においても水溶性 Ca は増加しつづけた。この際アコヤガイの不溶性 Ca が痕跡になつてもなお相当

量の不溶性 P が存在することは Ca と P の存在形態の相違を暗示している (Fig. 2)。

アコヤガイの閉殻筋に投与された醋酸カルシウムおよび乳酸ソーダはすみやかに他の組織，とくに外套膜と鰓に多く集積されるので (Fig. 3)，貝の運動量等に応じて閉殻筋に生成される乳酸等は容易に外套膜，鰓等に移行し，同時に各組織の不溶性 Ca を水溶化しその濃度をたかめることが期待される。

アコヤガイの閉殻筋に醋酸ソーダ，乳酸ソーダを投与すると 10 分間ですでに外套膜，鰓の水溶性 Ca は増加し，とくに透析性 Ca の増加が著しい (Table 1, 2)。たとえば 25～30g のアコヤガイの閉殻筋に 100 mg の醋酸ソーダを投与すると 10 分後に外套膜，鰓の醋酸濃度は約 6～10 mM 高くなり，同時に透析性 Ca の濃度は約 4～5 mM 高くなる。この傾向はアコヤガイの閉殻筋とイケチョウガイの内臓に醋酸ソーダを投与した場合にも認められる。

有機酸塩の投与により組織中の水溶性 Ca は上述のごとく増加するのに対し，無機-P はほとんど変化しない。 $CaHPO_4$ 溶液に有機酸または有機酸塩を，イケチョウガイの組織ホモジェネートに有機酸を添加すると水溶性 Ca とともに無機-P も増加するが，一方貝の閉殻筋，内臓に有機酸塩を投与した場合には外套膜，鰓の透析性 Ca が増加するにかかわらず，無機-P がほとんど変化しないことは注目に値する。無機-P が増加し難い理由としては貝体内における水溶性，透析性 Ca の増加が主に $CaCO_3$，その他の P を含まない Ca 化合物の溶解に基くか，あるいは有機酸塩は $CaCO_3$ 等とともに $Ca_3(PO_4)_2$ 等にも作用して小量の P イオンを増加させるが，生成された P イオンはすみやかにエステル化して有機-P となること等[8),9),10)]が考えられる。

著者はさきにアコヤガイ，イケチョウガイ各組織中の無機-P と Ca のイオン濃度を測定した結果，両イオンの分布はたがいに逆の関係にあり，無機-P イオン濃度の最も低い外套膜では Ca イオンが最も高いことを認めたが[3)]，一定条件下において $[Ca^{++}]^3 \times [PO_4^{\equiv}]^2$ の見掛のイオン積が一定値を保つとすれば，有機酸塩の投与により無機-P が増加し難いことは Ca イオン濃度の増加にとつてきわめて好都合である。

以上の諸結果より推測して，貝体内に生起される有機酸濃度の日週変化は外套膜中の水溶性 Ca 濃度を増減させるであろうが，外套膜の水溶性 Ca は不溶性 Ca より活発に代謝されるので[11)]，水溶性 Ca の増減は外套膜から貝殻上に分泌される Ca 量を支配し，$CaCO_3$ の沈着と部分的溶解をなすと考えられる。

摘　　　要

1） 真珠表面に見られる aragonite 結晶の成長，溶解現象は分泌液中の $CaCO_3$ 濃度の高低に起因すると考えられている。著者は貝体内の Ca イオン濃度を増減せしめる一因子として貝の諸生理作用の日週変化に伴なつて増減する有機酸を仮定し，2，3 の実験結果より，この推定の確実性について検討した。

2） 貝における有機酸濃度の日週変化が貝体内の Ca 化合物におよぼす影響を明らかにするための基礎実験として，種々の濃度の醋酸，乳酸，コハク酸溶液における $CaHPO_4$，$CaCO_3$ の溶解度を測定するとともに，アコヤガイ，イケチョウガイの組織ホモジェネートに有機酸を添加し各形態の Ca，P 量の変化を調べた (Fig. 1, 2)。その結果，昼夜により変動する有機酸濃度の範囲内において，有機酸を添加することにより不溶性 Ca，P は減少し，水溶性 Ca，P は増加すること，有機酸濃度の増加に伴なう水溶性 Ca，P の増加は組織中の不溶性 Ca，P 含量に制限されること等を認めた。

3） アコヤガイの閉殻筋に投与された醋酸カルシウム，乳酸ソーダは速かに各組織に分布し，10 分～1 時間後には醋酸，乳酸は鰓と外套膜に最も多く集積される。同時にアコヤガイの閉殻筋，イケチョウガイの内臓に醋酸ソーダ，乳酸ソーダ液を投与すると 10 分後において両貝の外套膜，鰓の水溶性 Ca，とくに透析性 Ca は増加するが，無機-P 量はほとんど変化しないことを認めた。

4） 上述の諸結果より貝体内における有機酸濃度の消長は貝体内の Ca イオン濃度を増減させ，その結果，貝殻，真珠表面における $CaCO_3$ の沈着，溶解を促進すると推定した。

終りに臨み，本研究に対し，終始懇篤なる御指導を賜つた本学三宅正人教授，ならびに九州大学農学部富

山哲夫教授に対し謹んで感謝の意を表す。

文　　献

1) WATABE, N.: Rep. Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, **1**, 449 (1954).
2) 堀口吉重: 本誌 **26**, 695 (1960).
3) ———: 本誌 **26**, 701 (1960).
4) GREENWALD, I.: J. Biol. Chem., **124**, 437 (1938).
5) HAMMEN, C. S. and K. M. WILBUR: ibid., **235**, 1268 (1959).
6) BEVELANDER, G. and P. BENZER: Biol. Bull., **94**, 176 (1948).
7) OZIMA, Y.: Cytologia, **17**, 134 (1952).
8) MANIGAULT, P.: Ann. Inst. Oceanogr., **18**, 331 (1939).
9) BEVELANDER, G.: Biol. Bull., **94**, 176 (1948); **102**, 9 (1952).
10) ASANO, M. and M. ITO: Tohoku J. Agr. Res., **7**, 291 (1956).
11) 堀口吉重: 三重県立大水産学部紀要, **3**, 391 (1959).

アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—XIV.

³²PによるアコヤガイのP代謝について

堀 口 吉 重

(1960年2月29日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON *PTERIA (PINCTADA) MARTENSII* (DUNKER) AND *HYRIOPSIS SCHLEGELII* (v. MARTENS)—XIV. ON THE PHOSPHORUS METABOLISM OF *PTERIA (PINCTADA) MARTENSII* (DUNKER) EMPLOYING ^{32}P

Yoshishige HORIGUCHI*

The author investigated the metabolism of phosphorus in each tissue of *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER), using ^{32}P as a tracer. The results are as follows.

1) As is shown in Figures 1 and 2, the accumulation of ^{32}P to each tissue reached the equilibrium after 30 hrs or more, and the disappearance of ^{32}P required about 11 to 15 hrs as biological half time.

2) The turn over rate of phosphorus was about 0.017γ/hour/1g. wet tissue in the mantle, 0.015γ/hour/1g. in the gills, 0.011γ/hour/1g. in the viscera and 0.003γ/hour/1g. in the adductor muscle, respectively (see Tables 1 and 2). The quantities of phosphorus metabolixed are as small as about 1/14,000 to 1/57,000 when compared with those of calcium metabolized of pearl oyster, which was measured under another conditions[10].

3) It was presumed that the pearl oyster takes the greater part of phosphorus through the digestive system via mouth and the small part of phosphorus through the tissue surface directly.

4) As one of the reason that the shell contains trace of phosphorus the secretory function of mantle which secrets phosphorus only in very smaller quantity than calcium and carbon dioxide was supposed.

貝殻中のP含量はきわめて少ないが[1),2)]，貝殻物質の分泌器官である外套膜にはCa, CO_2とともにPのイオン濃度も相当に高く，$[Ca^{++}]^3 \times [PO_4^{\equiv}]^2$の見掛けのイオン積は人血のそれに近似する[3)]。したがつて貝殻と骨における構成成分の差異を貝の血液，外套膜と脊椎動物の血液における$[Ca^{++}]^3 \times [PO_4^{\equiv}]^2$，$[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$の見掛けのイオン積の相違から説明することはできない。骨は内部骨格よりなるに対し貝殻は外部骨格を形成するので，貝殻の成長は外套膜における各イオンの濃度とともに各イオンに対する外套膜の分泌能を考慮する必要があると考えられる。

貝類のP代謝についてはCaにくらべ不明の点が多く，貝体の各組織における^{32}Pの集積，分布が報告されているが[1),5),6)]，Pの分泌についてはカキの全軟体部当りの分泌量が測定されているのみで[7)]，外套膜のP分泌については定性的結果が知られているにすぎない[8)]。

著者はアコヤガイにおけるP代謝量をCa代謝量と比較するために^{32}Pを用い，各組織のP代謝量を測定した。そして貝の外套膜と脊椎動物の体液においてCa, CO_2, Pのイオン濃度が近似するにもかかわらず，貝殻がほとんど$Ca_3(PO_4)_2$を含まない理由を外套膜におけるCaとPの分泌量の相違より説明することができたのでそれらの結果について報告する。

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, Japan).

材料および方法

試料貝： 三重県英虞湾産2年生アコヤガイ (13～17g) を用い，実験は 1959 年 8 月 1 日より 10 月 15 日の間に行なつた。

^{32}P 飼育液： ^{32}P の HCl 溶液を海水にて約 6,000 倍に稀釈した。飼育液は 1 ml につき 570 ± 15 cpm, 0.071γ の P を含み，塩分 32.5‰, pH 8.2～8.3 で貝1個に対し飼育液 1l の割合で用い，水温 25.5～26.5°C においてゆるやかに攪拌しながら飼育した。

吸収実験： ^{32}P 飼育液中に 30 分，2, 5, 10, 23 および 30 時間浸漬したアコヤガイは直ちに開殻し外套膜，鰓，閉殻筋，内臓に分ち，沪紙で付着水を拭き去り，秤量，乾燥したのち科学研究所製 B2L1 型 Geiger Mueller counter で ^{32}P を測定する。つぎに 550～650°C で灰化したのち灰分の一部は FISKE and SUBBAROW 法[9] により全-P を比色定量する。

排出実験： 30 時間 ^{32}P を吸収させた貝を非放射性海水に入れて 15, 30 分，2, 5, 8, 23 および 30 時間おいたのちとり上げ，吸収実験の場合と同様に処理して残存 ^{32}P 量を測定する。また全-P を比色定量する。

結　　　果

測定結果は各測定点につき3個の貝より得られた平均値を示す。一連の実験において異状値と思われる測定値が得られたときはさらに3個の貝について追試した。

1. アコヤガイ各組織の ^{32}P 集積

アコヤガイの ^{32}P 集積結果は Fig. 1 に示す。

アコヤガイによる ^{32}P 集積は ^{32}P 飼育液に浸漬してから約 10 時間に至る間において活潑に行なわれ，その後の集積は徐々ながら 30 時間まで増加しつづけた。

^{32}P 飼育液に 30 時間浸漬した貝の各組織における ^{32}P 集積量を新鮮物 1g 当りで比較すると外套膜 (約 2,200 cpm) と鰓 (約 1,900 cpm) に多く，内臓 (約 1,300 cpm) がこれにつぎ，閉殻筋 (約 400 cpm) には著しく少ない。各組織別の ^{32}P 集積量を比較すると全集積量の約 36% は外套膜に，約 30% は内臓に，約 24% は鰓に，残り約 10% は閉殻筋にそれぞれ分布された。

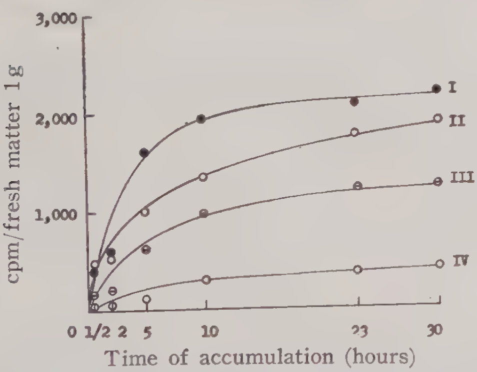


Fig. 1. The accumulation of ^{32}P in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER) immersed in radioactive sea water.
Note: I··Mantle, II··Gills, III··Viscera, IV··Adductor muscle.
The experiment was carried out during 1st Aug.–15th Oct. 1959.
Water temp. was 25.5～26.5°C and shellfish of 13～17g body weight was used.

2. アコヤガイ各組織より ^{32}P の排出

30 時間 ^{32}P 飼育液に浸しほぼ吸収平衡に達した貝を非放射性海水に入れ ^{32}P を排出させた結果を Fig. 2

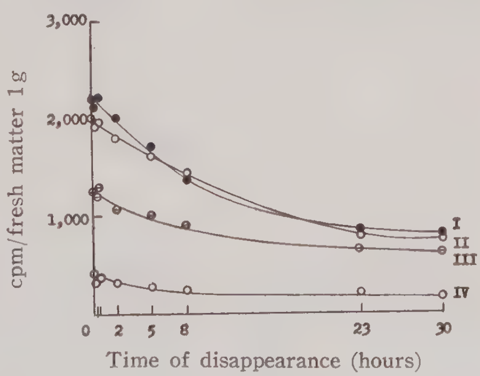


Fig. 2. The disappearance of ^{32}P from each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER) immersed in nonradioactive sea water.
Note: The experimental conditions were the same as those in Fig. 1.

に示す。

各組織における ^{32}P の生物学的半減期は外套膜では約 11 時間，鰓では約 12 時間，内臓は約 14 時間，閉設筋では約 15 時間であつた。

3. アコヤガイ各組織における P 代謝量の計算

アコヤガイ，イケチョウガイにおける Ca 代謝量の計算と同様の方法[10),11)]にしたがい，各組織における置換されやすい P 量と ^{32}P の生物学的半減期より P 代謝量を計算し Table 1, 2 の結果を得た。

Table 1. Renewal of P in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

Tissue	S. A.*	Percentage of P renewed (%)**	Total P in 1g wet tissue (mg)	P weight to be renewed in 1g wet tissue until the equilibrium (γ)
Mantle	2,200	0.027	0.998	0.27
Gills	1,620	0.020	1.281	0.26
Viscera	1,000	0.012	1.770	0.21
Adductor muscle	281	0.004	1.622	0.06

Remarks:
* Specific activity of the tissue after culture (30 hrs) in radioactive sea water.
** Percentage of P renewed, which was obtained by dividing s. a. of the tissues by s. a. (8,028,170) of the radioactive sea water.

Table 2. Turn over of P in each tissue of *Pteria* (*Pinctada*) *martensii* (DUNKER).

Tissue	Half time (hrs)	Turn over time (half time/0.693)	Total P in 1g wet tissue until the equilibrium (γ)	Turn over rate (γ/hr./1g wet tissue)
Mantle	11	16	0.27	0.017
Gills	12	17	0.26	0.015
Viscera	14	20	0.21	0.011
Adductor muscle	15	22	0.06	0.003

既述の条件下において，アコヤガイ各組織の P 置換量は外套膜 (0.017γ/1時間/1g) が最も多く，鰓 (0.015γ) がこれにつぎ，内臓 (0.11γ)，閉殻筋 (0.003γ) は少ない。また各組織全体では1時間に外套膜は 0.01γ，内臓は 0.011γ，鰓は 0.008γ，閉殻筋は 0.003γ の P を置換する。

考　　察

試料貝の大さ，測定時期，水温等を異にするが，アコヤガイにおける Ca[10)] と P の代謝量には注目すべき差異が存在する。

^{45}Ca は約 2～5 時間で吸収平衡に達するが，^{32}P は 30 時間吸収させても容易に平衡に達しない。また ^{45}Ca の排出はきわめて速く，その生物学的半減期は約 15 分以内であるが，^{32}P は約 11～15 時間を要す。

他方，アコヤガイ各組織の P 含量（約 1.0～1.77 mg/1g）は Ca 含量（約 0.59～0.79 mg）より多いが，吸収平衡に達するまでに Ca はその約 8.0～27% が置換されるに対し，P は約 0.004～0.027% が置換されるにすぎない。したがつて新鮮物 1g の組織が1時間に置換する P 量 (0.003～0.017γ) は Ca 置換量 (0.150～0.856 mg) にくらべて著しく少ない。

つぎに POMEROY 等[7)] がカキの P 代謝について測定した結果とアコヤガイの P 代謝様式の異同について検討する。

両貝において，^{32}P が吸収平衡に達するに要する時間（カキ約 16～64 時間，アコヤガイ約 30 時間），組織

中の全 P 量に対する置換されやすい P 量の比率（カキの血液 0.03〜0.09%，アコヤガイ各組織 0.004〜0.027%），P 吸収量（カキ全組織 10g につき1日約 4γ，アコヤガイの各組織 10g につき1日約 0.7〜4.0γ）は互に近似するが，各組織における ^{32}P の分布比率（カキ鰓約 80%，その他組織約 20%，アコヤガイ外套膜約 36%，内臓約 30%，鰓約 24%，閉殻筋約 10%）は著しく相違する。

また ^{32}P を含む海水に浸したカキは吸収初期において ^{32}P の大部分が鰓に見出されるので，海水中の P イオンは主として鰓により吸収されると推測されているが，吸収 P 量は排出 P 量の約 20% にすぎない。アコヤガイでも外套膜より分泌される Ca と貝殻に沈着する Ca 量（分泌 Ca 量のほぼ全量が貝殻に沈着する[10]）を基準とした場合，貝殻中の P 量は外套膜の分泌 P 量にくらべて著しく多い。

前述の条件下において測定されたアコヤガイ外套膜の Ca : P の分泌比率と貝殻中の Ca: P の含有比率が一致しない理由を検討した結果，アコヤガイによる P の経口，非経口摂取量と関連してつぎのごとき推論が得られた。

今，仮に貝殻の 95% が $CaCO_3$ より構成されるとすれば，1g の貝殻は約 380mg の Ca を含むことになる。これに対し貝殻 1g 中には 0.1〜0.2mg の P が含まれるので[2]，貝殻中の P は Ca の 1/1,900〜1/3,800 含まれるにすぎない。しかるに前述の条件下においてアコヤガイの外套膜は約 25,000: 1 の比率で Ca と P を分泌するので，もし外套膜より分泌される P が Ca と同様に全量貝殻に沈着すると仮定すれば，貝殻中の P は Ca にくらべて過多であり，貝殻中の Ca : P の比率を基準にすれば上述の条件下において測定した P 代謝量は自然の状態における代謝量の約 1/6〜1/12 にすぎないことになる。

この実験は ^{32}P を海水で稀釈した飼育液を用いたので ^{32}P の大部分は無機-^{32}P として存在するであろうが，自然の状態では一般に海水中に溶解している無機-P 量はプランクトン等に含まれる P，水溶性有機-P 量にくらべると著しく少ない場合が多いので，アコヤガイに摂取される P は Ca の場合と異なりその主要供給源を餌に依存するであろうと考えられる。したがつて予め ^{32}P を吸収させたプランクトン等の餌を含む海水中でアコヤガイを飼育すれば，P の代謝量は自然に近い水準まで上昇するであろうと考えアオミドロに ^{32}P を吸収させて貝に与えたところ（吉井等[13]参照），30 時間の浸漬により内臓中の ^{32}P 集積量は外套膜，鰓等の約2倍に達した。

これらの結果はアコヤガイが主として海水中のプランクトン，デトリタス等に含まれる P を径口的に摂取していることを示唆し，したがつて自然の状態における P 代謝量は本実験により得られた結果よりさらに多く，外套膜より分泌される Ca: P の比率は貝殻中におけるそれらの比率に近づくことが期待される。

アコヤガイの外套膜における CO_2 代謝量は明らかでないが，クロチョウガイ，ベニコチョウガイ，イシガイより切り離された外套膜は空気中において乾物 1g 当り1時間に 0.17〜1.44mg の CO_2 を放出するので[12]，アコヤガイの外套膜も海水中において Ca 代謝量に近い水準の CO_2 を分泌する可能性がある。

上述のごとく，Ca と CO_2 は外套膜より分泌されやすく，P のみは分泌され難いので，貝の外套膜における $[Ca^{++}]^3 \times [PO_4^{\equiv}]^2$，$[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$ の見掛けのイオン積が脊椎動物のそれに近似していても，外套膜は主に Ca と CO_2 を分泌し，P をほとんど分泌しない。その結果，外套膜の分泌液は主に Ca と CO_2 よりなるので，貝殻も $CaCO_3$ を主要構成分として形成されるものと推定される。

摘　　要

1) アコヤガイ，イケチョウガイの外套膜における $[Ca^{++}]^3 \times [PO_4^{\equiv}]^2$，$[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$ の見掛けのイオン積が脊椎動物の体液におけるそれらのイオン積に近似するにもかかわらず，貝殻が $CaCO_3$ を主成分とし，$Ca_3(PO_4)_2$ をほとんど含まない理由を明らかにするために ^{32}P を用いてアコヤガイにおける P の行動を追跡した。

2) アコヤガイ各組織の ^{32}P 集積が平衡に達するには 30 時間以上を要し，またその生物学的半減期は約 11〜15 時間である。組織中の置換されやすい P は全-P の 0.004〜0.027% であつた。したがつて軟組織 1g が1時間に置換する P 量は外套膜で 0.017γ，鰓 0.015γ，内臓 0.011γ，閉殻筋 0.003γ であり，この

代謝量は Ca 代謝量の約 1/14,000～1/57,000 にすぎない。

3) ^{32}P を溶解した海水中において測定したアコヤガイ外套膜の P 分泌量: Ca 分泌量の比率と貝殻中の Ca: P 含量の比率の相違，その他の結果よりアコヤガイは主に餌等に含まれる P を経口的に摂取し，溶存無機-P の摂取量は少ないことが推定された。

4) アコヤガイの外套膜が Ca, CO_2, P の各イオンを高濃度に含むにかかわらず，貝殻が主に $CaCO_3$ よりなり $Ca_3(PO_4)_2$ をほとんど含まないのは外套膜が Ca と CO_2 を活発に分泌し，P をほとんど分泌しない機能により説明される。

終りに臨み，本研究に対し終始懇篤なる御指導を賜つた本学三宅正人教授，ならびに九州大学農学部富山哲夫教授に対し謹んで感謝の意を表する。

文　　献

1) 沢田保夫: 国立真珠研究所報告，**2**，68 (1957).
2) 堀口吉重: 本誌，**25**，397 (1959).
3) ―――: 本誌，投稿中 (12 報).
4) BEVELANDER, G.: Biol. Bull., **102**, 9 (1952).
5) OKADA, K., T. TSUJII and G. YOSHII: Rep. Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, **2**, 199 (1956).
6) ASANO, M. and M. ITO: Tohoku J. Agr. Res., **7**, 291 (1956).
7) POMEROY, L. H. and H. H. HASKIN: Biol. Bull., **107**, 123 (1954).
8) BEVELANDER, G. and P. BENZER: ibid., **94**, 176 (1948).
9) FISKE, C.H. and Y. SUBBAROW: J. Biol. Chem., **66**, 375 (1925).
10) 堀口吉重: 三重県立大学水産学部紀要，**3**，381 (1959).
11) ―――: 本誌，**22**，747 (1957).
12) ―――: 鹿児島大学水産学部紀要，**2**，85 (1952).
13) 吉井義一・渡部哲光・岡田弥一郎: 本誌，**22**，240 (1956).

酸化魚油の抗菌作用に関する研究—I.

酸化イカ肝油 methyl ester から carbonyl の分別*

豊 水 正 道

(1960 年 4 月 4 日受理)

STUDIES ON ANTIMICROBIAL ACTION OF OXIDIZED FISH OIL—I. FRACTIONATION OF CARBONYLS FROM THE OXIDIZED CALAMARY OIL METHYL ESTER

Masamichi Toyomizu**

It has been demonstrated by the author that carbonyls are responsible for antimicrobial action of the oxidized fish oil. This finding presented a problem for separating carbonyls from the oxidized oil. The author deviced a new method of extracting carbonyl with acetic acid, and compared it with the urea segregation method in respect to fractionation of carbonyls.

Antimicrobial carbonyls were fractionated into petroleum ether soluble fraction which does not form urea complex (Table 1, Fig. 1), and by the acetic acid extraction method they were extracted with 85% acetic acid from 5% oxidized calamary oil methyl ester solution of ligroin in a separatory funnel (Table 2, Fig. 2). The data illustrated in Table 1, 2 indicated that the enrichment of antimicrobial carbonyls by the acetic acid extraction was superior to that by the urea segregation method. It was confirmed that carbonyls forming polymer in the ligroin insoluble fraction had little antimicrobial activity, but carbonyls in the ligroin and 85% acetic acid soluble fraction showed the activity. As a result antimicrobial activity produced during oxidation of fish oil was found proportional not to total carbonyl value but to ligroin soluble carbonyl value (Table 3, Fig. 3).

自動酸化油および加熱油の毒性は hydroperoxide によるという説は多くの人から支持され，松尾[1] はこれに関する綜説を発表している。最近 KAUNITZ 等[2]，JOHNSON 等[3] は酸化油を分子蒸溜して蒸溜残渣である重合物が毒性の本体であると主張し，また CRAMPTON 等[4]，COMMON 等[5] は酸化油を尿素分別して付加物を形成しない区分に毒性物質が濃縮されるので環状構造をもつたものが毒性の本体であろうと述べている。著者[6] は酸化した不飽和脂肪酸 methyl ester の *Debaryomyces membranaefaciens* に対する増殖抑制作用は過酸化物価には関係なく，thiobarbituric acid と縮合して赤色に呈色する物質と密接な関係を有していることをすでに報告した。この thiobarbituric acid と呈色する物質は carbonyl といわれている。不飽和脂肪酸または不飽和油の酸化生成物である carbonyl は酸化機構の解明，酸敗油の悪臭生成および脱臭という問題に関連して研究されている。最近は gamma 線照射による食品の褐変化の原因として carbonyl 基と amino 基との縮合反応すなわち amino-carbonyl 反応が重要視されており，また魚油の油焼現象にも酸化生成物である carbonyl が関係しているという説が提唱され酸化物中の carbonyl の重要性はますます認識されてきた。酸化油中の carbonyl の分離には蒸気蒸溜法が用いられているが，著者[7] は GIRARD の P 試薬および $NaHSO_3$ 溶液を用いて carbonyl を分別したところ抗菌作用は carbonyl 区分のみに認められたが，この 2 方法によつては収量が悪かつた。GIRARD 法では酢酸々性 alcohol 中で加熱することがその原因であつた。また $NaHSO_3$ で分別する場合は α, β に二重結合のある carbonyl ではつぎに示すごとく

* 本研究の大要は 1959 年 4 月，日本水産学会春季大会東京で発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

sulfon 化反応が起き，生成した sulfonate は酸で分解されない[8]。

$$\rangle C = CH-CHO + 2NaHSO_3 \rightarrow \rangle C(SO_3Na)-CH_2-CH\langle^{OH}_{SO_3Na}$$

実際に $NaHSO_3$ で付加物を形成させた後，原油から分別し HCl または H_2SO_4 で付加物を分解しても，石油エーテル不溶性の非分解物が多量に残存した。すなわち上述の 2 方法は酸化不飽和脂肪酸の抗菌作用が carbonyl に基くことを証明するには良い方法であるが，carbonyl を分離・同定するには適当でないと考えられる。

著者[9]は先に抗菌性物質は尿素分別法によつては尿素と付加物を形成しない区分に濃縮されることを知つたので，尿素による carbonyl の分布状態を検討した。元来尿素分別法は直鎖飽和炭素化合物，不飽和化合物，側鎖化合物，環状化合物および重合体等を分別する方法であつて，本質的には carbonyl の分別法ではない。酸化油の抗菌作用と密接な関係のある thiobarbituric acid 価の測定には benzol にとかした酸化生成物 (carbonyl) を thiobarbituric acid の 50% 酢酸溶液中で縮合反応させるのであるから，carbonyl は benzol のような有機溶媒から酢酸へ移行する可能性があること，および尿素分別法で分離した抗菌性 carbonyl を予備実験的に分析したところ炭素数 10 前後の飽和並びに不飽和 aldehyde が主体であることがわかつたので，抗菌性 carbonyl を酢酸で抽出する新方法を考案し，これと尿素分別法とを比較・検討した。

実験の部

不飽和脂肪酸 methyl ester: イカ肝油 (ヨウソ価 182.83, ケン化価 181.63, 酸価 1.90) をケン化・methyl 化した後減圧蒸溜して 180～239°C/2 mm で溜出する区分を集めた。ヨウソ価は 188.18, ケン化価は 172.77 であつた。

不飽和脂肪酸 methyl ester の酸化: 上記 methyl ester に M/100 になるように Cu-stearate を加えて 80°C で 1.5 時間酸素吹込み下で酸化した。

carbonyl 定量法: HENICK の方法[10]すなわち三塩化酢酸の存在の下で 2, 4-dinitrophenylhydrazone をつくり苛性加里で発色させて，430 および 460 mμ の吸光度を測定した。この価から CHIPAULT[11] の提唱した式によつて飽和 carbonyl 価および不飽和 carbonyl 価を millimoles/kilogram で表わして求めた。

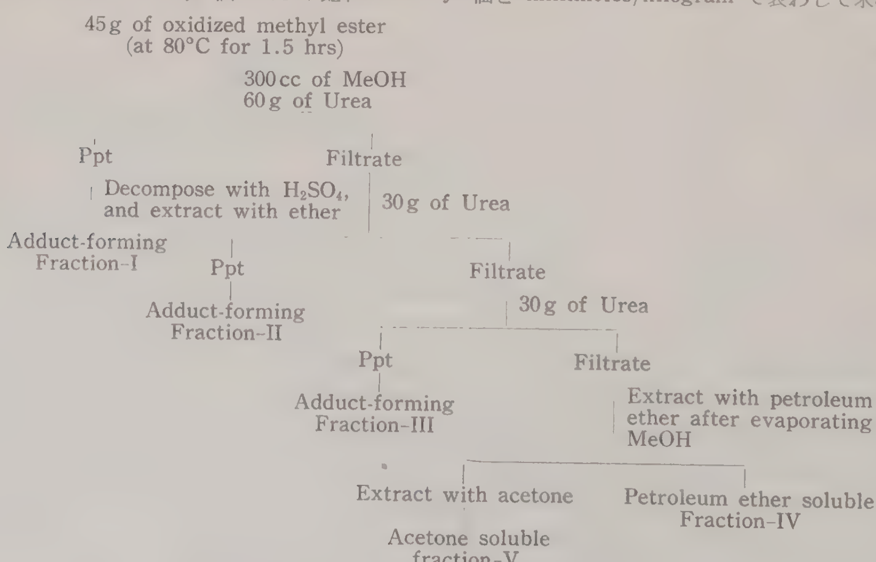


Fig. 1. Fractionation of carbonyls from the oxidized calamary oil methyl ester by the use of urea inclusion compounds.

I. 尿素による酸化不飽和脂肪酸 methyl ester 中の carbonyl の分別

著者が先に試みた酸化不飽和脂肪酸 methyl ester 中の抗菌性物質の尿素分別法[9] に準じて Fig. 1 に示したごとく分別を行なつた。すなわち 60g の尿素を 300cc の methanol に加温溶解した後 45g の酸化 methyl ester を添加し充分攪拌して溶解した後，冷却して沈澱する付加物を沪別し尿素飽和の methanol で洗滌した。沪液は洗滌液と合した後新たに 30g の尿素を加えて再び加温し尿素が溶解してから冷却・沪別・洗滌を行ない，最後に更に1回上記の操作を繰り返した。かくして得た付加物はそれぞれ稀硫酸で分解し，食塩を飽和した後 ether で抽出して尿素付加物形成区分 I～III を分別した。これ等の付加物を沪別した最後の沪液から石油 ether 可溶性付加物非形成区分 IV および acetone 可溶性付加物非形成区分 V を分離した。各区分の収量，carbonyl 価および抗菌作用力は Table 1 に示した。

Table 1. Carbonyl content and antimicrobial activityof the fractions obtained from the oxidized calamary oil methyl ester using urea inclusion compounds.

	Yield (g)	Carbonyl		Antimicrobial activity	
		Sat. (mm/kg)	Unsat. (mm/kg)	Amount added in 10 cc of medium (mg)	Growth
Original calamary oil methyl ester	—	0.6	0.4	100	卌
Methyl ester+Cu-stearate	—	0	4.8	100	卌
Oxidized methyl ester	45.0	61.8	146.3	20	−
Adduct-forming fraction-I	14.2	23.5	10.1	100	+
Adduct-forming fraction-II	10.0	25.5	21.7	100	+
Adduct-forming fraction-III	3.4	54.2	42.7	100	±
Non-adduct-forming and petroleum ether soluble fraction-IV	5.4	232.4	292.0	5	−
Non-adduct-forming and acetone soluble fraction -V	0.9	295.6	222.9	100	±

− no growth; ± doubtful growth; + slight growth; 卌 normal growth.

II. 酢酸による酸化不飽和脂肪酸 methyl ester 中の carbonyl の抽出

酸化 methyl ester から carbonyl を酢酸で抽出するには酸化 methyl ester の溶媒と酢酸の濃度とが主要な因子である。実際には相当高濃度の酢酸を用いなければならないから溶媒としては高濃度の酢酸とは混り難く，carbonyl に対しては溶解度の小さいものが望ましい。予備実験でこれ等の点を検討した結果，酢酸の濃度は 85% が最適であり，これ以上の高濃度では carbonyl 以外のものが多量に酢酸溶液に移行し，これ以下の濃度では carbonyl の収量が悪かつた。酸化 methyl ester の溶媒としては ligroin が最も良く，かつ試料を ligroin の 5% 溶液として 85% 酢酸で抽出するのが最良の条件であつた。すなわち Fig. 2 に示したように 45g の試料に 855cc の ligroin を添加し，ligroin 不溶の重合物を沪別した。その後毎回 100cc 宛の 85% 酢酸溶液で分液漏斗を用い4回抽出を行ない，得た 85% 酢酸抽出液にこれと等量宛の水および飽和食塩水を加え酢酸を稀釈してから ether で抽出して carbonyl を集めた。各区分の収量，carbonyl 価および抗菌作用力は Table 2 に示した。85% 酢酸可溶性区分は carbonyl 価が大であり，かつ抗

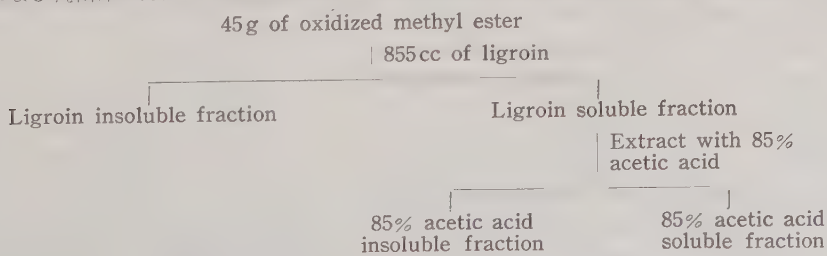


Fig. 2. Extraction of carbonyls from the oxidized calamary oil methyl ester with 85% acetic acid.

Table 2. Carbonyl content and antimicrobial activity of the fractions obtained from the oxidized calamary oil methyl ester by extraction with 85% acetic acid.

	Yield (g)	Carbonyl		Antimicrobial activity	
		Sat. (mm/kg)	Unsat. (mm/kg)	Amount added in 10 cc of medium (mg)	Growth
Oxidized methyl ester	45.0	80.4	134.9	20	–
Ligroin insoluble fraction	1.3	76.9	807.5	100	±
Ligroin soluble fraction	41.8	65.7	95.8	20	–
85% acetic acid soluble fr.	1.8	329.0	714.4	3	–
85% acetic acid insoluble fr.	40.0	18.8	20.8	100	±

菌力も大であるが，ligroin 不溶性区分は carbonyl 価が大であるにもかかわらず抗菌作用をほとんど示さないので，85% 酢酸可溶性区分の carbonyl が抗菌作用をもつているか否かを調べた。すなわち 85% 酢酸可溶区分の carbonyl を 2,4 dinitrophenylhydrazone として分離し[12]，これを硫酸々性 ethanol 中で diacetyl と加熱して再生した carbonyl[13] の抗菌力を測定したところ 2,000 であり，85% 酢酸可溶性区分の carbonyl は抗菌性 carbonyl であつた。

考　　察

酢酸抽出法で分別した ligroin 不溶性の重合油は carbonyl 価が大であるが抗菌作用がほとんどない。これに対し 85% 酢酸可溶性区分は carbonyl 価が大であり，その carbonyl は抗菌力が大である。また抽出残渣の 85% 酢酸不溶性区分の carbonyl 価はきわめて小であり，抗菌力は微弱である。これ等から酸化 methyl ester 中の抗菌性 carbonyl は 85% 酢酸溶液でよく分別されたとみなしてよいと思われる。

尿素分別法によつては Table 1 で明らかなごとく carbonyl は各区分に存在し，付加物形成区分の carbonyl 価は低くしかも不飽和 carbonyl の含有率が低いのが特徴であり，この区分は抗菌作用をほとんど示さなかつた。石油 ether 可溶性の付加物非形成区分は carbonyl 価が大であり，抗菌作用も大であるが，85% 酢酸可溶区分の carbonyl 含量および抗菌力と比較するとおとつている。すなわち抗菌性 carbonyl を分別するには酢酸抽出法が尿素分別法よりもまさつている。

前述したように酢酸抽出法の ligroin 不溶性区分および尿素分別法の acetone 可溶性付加物非形成区分の重合油は carbonyl 価が大であるにもかかわらず抗菌作用が無いことについて考察する。著者[6]は先に全 carbonyl 価と抗菌作用力とは酸化初期においては比例するが5時間以上酸化を継続すると抗菌作用の減退にかかわらず全 carbonyl 価は増加することを報告した。本研究の結果とこの現象とを考え合わせて吟味すると，酸化がある程度以上進行すると特に高温度においては重合反応が進み，この重合物は carbonyl 基をもつているが抗菌作用がないので carbonyl 価の増大，抗菌力の減少という現象は carbonyl の生成よりも重合反応が盛んである時に起り得るのである。よつて ligroin で重合油を除去した酸化 methyl ester の carbonyl 価と抗菌力とは互に比例するのではないかと考えられる。イカ肝油 methyl ester に M/100 になるように Cu-stearate を添加し乾燥酸素を吹込んで 80°C, 90°C および 100°C で酸化して一定時間毎に全 carbonyl 価，と 5% になるように ligroin を添加し ligroin 可溶性区分の carbonyl 価および抗菌力を測定し Table 3, Fig. 3 に示した。methyl ester では酸化中に分子間の反応が起りやすいので酸化温度の差異により抗菌力が非常に異

Table 3. Antimicrobial activity of the oxidized calamary oil methyl ester after specified time and at different temperature.

Temp. (°C) \ Time (hr.)	1.5	3	5	7
80	25	20	25	50
90	25	20	25	50
100	25	20	25	50

Antimicrobial activity is represented by minimum amount (mg) in 10 cc of medium necessary for no growth.

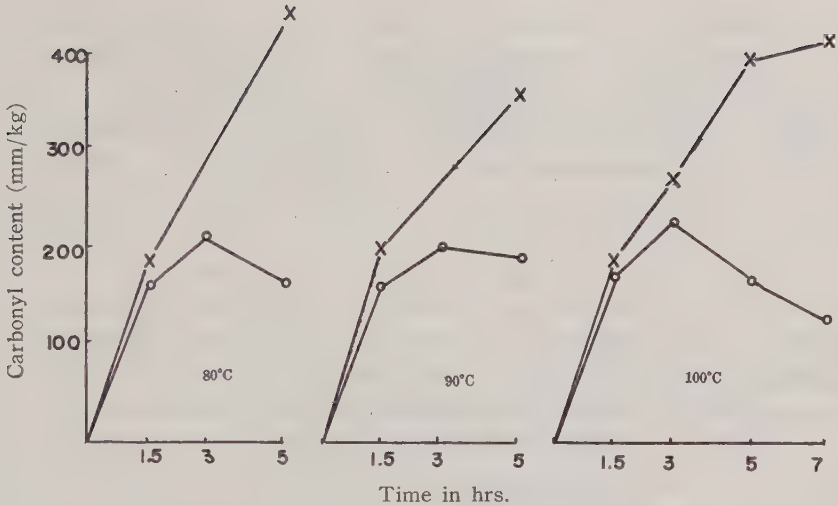


Fig. 3. Carbonyl content of the oxidized calamary oil methyl ester after specified time and at different temperature.
×——× total carbonyl; ○——○ ligroin soluble carbonyl

なるかと予測したが，実際には 80°～100°C では酸化温度の差異による影響は大でなく，ligroin 可溶性区分の carbonyl 価の時間的変化はほぼ同じで何れの温度においても抗菌力と比例している。

要　　約

1. 酸化油中の抗菌性 carbonyl を分別するために酢酸による新抽出法を考案し，尿素分別法と比較・検討した。

2. 酢酸抽出法では 5% 酸化イカ肝油 methyl ester の ligroin 溶液を 85% 酢酸で抽出することにより抗菌性 carbonyl が得られ，尿素分別法では石油 ether 可溶性の尿素付加物非形区分に抗菌性 carbonyl が分別された。

3. 抗菌性 carbonyl の分別には酢酸抽出法が尿素分別法よりもまさつていた。

4. 酢酸抽出法による ligroin 不溶性区分の重合油中の carbonyl は抗菌作用を示さないので，酸化に伴ない出現する抗菌力は全 carbonyl 価に比例しないで，ligroin 可溶性 carbonyl 価に比例した。

終稿に当り終始御懇篤な御指導を賜つた富安教授に謝意を表する。

文　　献

1) 松尾　登: 化学の領域, **11**, 970 (1957).
2) KAUNTITZ, H., SLANETZ, C.A., JOHNSON, R.E,. KNIGHT, H.B., SAUNDERS, D.H., and SWERN, D.: J. Am. Oil Chem. Soc., **33**, 630 (1956).
3) JOHNSON, O.C., SAKURAGI, T., and KUMMEROW, F.A.: *ibid.*, **33**, 433 (1956).
4) CRAMPTON, E.W., COMMON, R.H., PRITCHARD, E.T., and FARMER, F.A.: J. Nutrition, **60**, 13 (1956).
5) COMMON, R.H., CRAMPTON, E.W., FARMER, F.A., and DEFREITAS, A.S.W.: *ibid.*, **62**, 341 (1957).
6) 豊水正道: 本誌, **22**, 368 (1956).
7) ————: 同上, **23**, 33 (1957).
8) 藤田　穆: 有機定性分析, p. 116 (1953).
9) 豊水正道: 本誌, **22**, 258 (1955).
10) HENICK, A.S., BENCA, M.F., and MITCHELL, J.H.: J. Am. Oil Chem. Soc., **31**, 88 (1954).
11) CHIPAULT, J.R., PRIVETT, O.S., MIZUNO, G.R., NICKELL, E.C., and LUNDBERG, W.O.: Ind. and Eng. Chem., **49**, 1713 (1957).
12) SHRINER, R.L.: The systematic identification of organic compounds, p. 171 (1948).
13) 小野嘉七: 化学実験学, 合成篇 II, p. 431 (1942).

酸化魚油の抗菌作用に関する研究—II.

酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl の paper chromatography による分離・同定*

豊 水 正 道

(1960 年 4 月 7 日受理)

STUDIES ON ANTIMICROBIAL ACTION OF OXIDIZED FISH OIL—II. SEPARATION AND IDENTIFICATION OF CARBONYLS IN THE OXIDIZED CALAMARY OIL METHYL ESTER BY PAPER CHROMATOGRAPHY

Masamichi Toyomizu**

In the present paper experiment were done to separate, identify and estimate carbonyls in the oxidized methyl ester. By the combined use of column and paper chromatography and spectrophotometry, the joint quantitative and qualitative analyses for carbonyls were successfully carried out.

For the enrichment of carbonyls from the oxidized calamary oil methyl ester, steam distillation and acetic acid extraction were employed. Carbonyls were converted to 2, 4-dinitrophenylhydrazones. The derivatives were fractionated on the basis of the molecular weight of the parent carbonyls except 2,4-dienal by chromatography on columns of silica gel and celite analytical filter aid (2: 1) with 2~6% ether solution in hexane as a developing solvent. The fractions were resolved into classes of carbonyls by paper chromatography using Toyo No. 51 filter paper and 5% ether solution in hexane as a developing solvent. Both paper chromatographic separation of the classes of carbonyls into the individual components and their identification were made by using Toyo No. 51A filter paper impregnated by dipping in 7% vaseline solution in hexane and 96% methanol as a developing solvent. Butanal, pentanal, hexanal, heptanal, nonanal, 2-butenal, 2-heptenal, 2-octenal, and 2, 4-undecadienal were found in steam distillate. In ligroin and 85% acetic acid soluble fraction butanal, pentanal, hexanal, heptanal, 2-butenal, 2-heptenal, 2-octenal, and 2, 4-undecadienal were found (Table 2, 3 and 4). Spectrophotometric examination of the column chromatographic fractions and paper chromatographic spots in vaseline-methanol system permitted the differential determination of all carbonyls in the oxidized calamary oil methyl ester (Table 5).

Further investigations were carried out on carbonyls in ligroin insoluble fraction, and the possibility of polymerization taking place through an oxygen linkage was considered.

著者は酸化魚油の微生物発育阻害作用が carbonyl によることを明らかにしたので，本報では魚油の酸化により生成する carbonyl の分離・同定を試みた。酸化油脂中の carbonyl の分析法については多くの報告があり，carbonyl を 2,4 dinitrophenylhydrazone (DNPH) とし chromatography を用いて分離するようになつて以来，その分離・同定の研究は急速に進歩した。

Swift 等[1]は綿実油自動酸化生成物の蒸気蒸留物から hexanal, 2-octenal および 2, 4-decadienal を単離した。このような初期の研究は専ら column chromatography (C.C.) のみによつて行われている。aldehyde

* 本研究の大要は 1959 年 10 月，日本水産学会秋季大会（大阪）で発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

および ketone の DNPH の C. C. の吸着剤については GORDON 等[2] が silica gel: celite analytical filter aid (2: 1) を用いて好結果を得て以来この吸着剤の組合せが多く用いられた。すなわち CHANG 等[3] は酸化大豆油および methyl linolenate から，JOHNSON 等[4] は ethyl linoleate の酸化重合物の分解産物からこの吸着剤の組合せにより，それぞれ acetaldehyde, propanal, *n*-pentanal, *n*-hexanal および methyl ethyl ketone, propanal, acetaldehyde, α-pentenal, crotonaldehyde, C_5 の未知の carbonyl を分離した。その他に BUSS 等[5] は吸着剤として $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ を用いて酸敗植物油の揮発性 carbonyl を 30 区分に分け高級 aldehyde としては *n*-undecanal および *n*-undecenal を分離した。しかしながらこのように C. C. のみを用いる方法は多量の DNPH を必要とするのみでなく，操作に多大の労と長い時間とを要するという欠点がある。この点を改良するために paper chromatography (P. C.) を併用して分離・同定することが企てられた。この方法によつて FORSS 等[6] は酸化脱脂乳から acetone, C_2 および C_6 の *n*-saturated aldehyde; C_3 および C_5〜C_{11} の alk-2-enal; C_5〜C_{11} の 2, 4-dienal を分離した。PIPPEN 等[7] も調理した雞の筋肉組織中に acetone, methyl ethyl ketone; C_2〜C_6 および C_8〜C_9 の *n*-saturated aldehyde; C_5〜C_7 および C_{10}〜C_{11} の alk-2-enal; C_7 の alk-2, 4-dienal が存在することを明らかにした。酸化油中の carbonyl の研究はこのような定性的のものからさらに進歩して定量的な研究へ進み，WITTING 等[8] は gamma 線照射した豚脂から C_3〜C_5, C_9 および C_{12} の saturated aldehyde; acrolein, crotonal; 2, 4-undecadienal を同定するとともにその含量を測定して，総量の約半分が 2, 4-undecadienal であることを明らかにした。彼等は silicic acid と celite とを用いた C. C. にフラクションコレクターによる分離法とを併用して分離したものをさらに N, N-dimethylformamide で処理した沪紙を用いて decalin 飽和の dimethylformamide を移動相として P. C. を行つて同定している。このことは炭素数の多い飽和 aldehyde と不飽和 aldehyde が混在している相からの分離・同定が如何に困難であるかを示している。これらの研究結果から不飽和脂肪酸あるいは不飽和油の酸化によつて生ずる carbonyl は saturated aliphatic aldehyde, saturated ketone, alk-2-enal および alk-2, 4-dienal に種類分けされることが分る。GADDIS 等[9] は 165°C, 15 分加熱した豚脂の揮発性 carbonyl を DNPH として最初は ether-石油エーテルを展開剤とした P. C. によつて carbonyl の種類分けを行い，ついでこの種類分けされた各々の carbonyl をさらに第 2 回の P. C. によつて同定して，C_6 および C_8〜C_9 の *n*-alkanal; C_7〜C_9 および C_{11} の alk-2-enal; C_7 および C_{10}〜C_{11} の 2, 4-dienal の存在を明らかにし，かつ定量を行つた。

著者は，酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl を酢酸分別法または蒸気蒸溜法によつて分別し，DNPH とした後，最初に C. C. でついで第 1 回目の P. C. で種類分けを行い，さらに第 2 回目の P. C. で同定を行つた。酸化油中には carbonyl は比較的小量しか存在しないので chromatography を用いるのは良い方法と考えられる。しかしながら今日までに報告されている種々の P. C. を試みたところ，ある方法は streaking が甚しく，ある場合には解析が充分でなく，またあるものは操作が極めて複雑で多大の労と時間を要するために利用し得なかつた。またある種の天然物では良い方法であつても魚油の酸化生成には適用し得ないものもあつた。このような予備実験の結果 carbonyl の種類分けには ether-hexane で展開すると，C. C. と P. C. を用い，carbonyl の同定には ELLIS 等[10] の方法を改良した P. C. を用いて酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl の分析を行つた。

実 験 方 法

試料: アルカリ精製したイカ肝油から常法により調製した脂肪酸 methyl ester (186〜210°C/2 mm) に M/100 になるように Cu-stearate を加えて 100°C, 1.5 時間酸素吹込み下で酸化した。これを前報[11]で述べたように ligroin と酢酸とを用いて分別して得た ligroin, 85% 酢酸可溶性の区分，ligroin 不溶性の区分を試料とした。他方揮発性 carbonyl の分析には 200g の酸化 methyl ester を 1.5 時間蒸気蒸溜して得た 500 cc の溜液を試料とし，これら 3 区分から DNPH を調製した。

2, 4-dinitrophenylhydrazone の調製: 2 g の ligroin, 85% 酢酸可溶性区分を 20 cc の 95% ethanol

にとかし，0.4g の 2,4-dinitrophenylhydrazine, 2cc の濃硫酸，3cc の水および 10cc の 95% ethanol を混和して調製した hydrazine 試薬[12] をこれに加え一夜放置後遠心分離して得た沈澱を硫酸々性 ethanol, 95% ethanol で洗滌して DNPH を得た。ligroin 不溶性区分は ethanol にとかして全く同様にして DNPH を調製した。揮発性 carbonyl の DNPH は蒸気蒸溜液を 2N-HCl に飽和した 2,4-dinitrophenylhydrazine 溶液 50cc 宛で受け1夜放置後，生じた沈澱をあつめ 2N-HCl, 95% ethanol, および水で洗滌して調製した。hydrazine 溶液は総計 500cc 用いた。

column chromatography: 190°C で別々に2時間加熱した 12g の silica gel (Mallinckrod 社製，100 mesh) と 6g の celite analytical filter aid (Johns-Manville 社製) とをよく混和後適当量の hexane とともに 1.5×30cm のガラスチューブに注入充填して column を準備した。100〜150mg の DNPH を 20cc の chloroform に溶かして注入後，最初は hexane のみで，ついで ether を加えてその濃度を 2, 4, 6% と順次増加した ether 含有 hexane 溶液で展開を行つた。展開終了後は column を押出し各 band 毎に切りとつて ethyl acetate で DNPH を抽出した。

paper chromatography: C. C. で分別した各区分は carbonyl の同定を行う前に 5% ether を含んだ hexane を展開剤として上昇法により carbonyl の種類分けを行つた。すなわち 40 × 40cm の東洋沪紙 No. 51 を3分して原線上に毛細管で DNPH の benzol 溶液を線状に sampling した。*n*-alkanal, alk-2-enal, alk-2,4-dienal はそれぞれ固有の R_f まで移動するから約 20cm 展開後分離した band を切り取り，下降法により benzol で溶出した。かくして得た DNPH はつぎに ELLIS 等[10]の方法を改良して同定した。すなわち 2×40cm の東洋沪紙 No. 51A を 7% white vaseline (丸石製薬会社製・日本局法) の hexane 溶液に浸漬し，15 分間室温で乾かした後 Sampling して 96% methanol で上昇法により展開した。この場合一定の R_f を得るために mercury trap を使用した。これは側管をもつた水銀の入つた 25cc 容のフラスコで，クロマト塔に通じるガラス管がフラスコの中の水銀中に 2mm 浸してある。この mercury trap はクロマト塔内の展開剤の蒸気圧を一定に保つことにより常に一定の R_f を与え非常に有効であつた。

DNPH の極大吸収波長の測定: vaseline-methanol 法による P. C. で分離した spot を methanol で溶出したものおよび authentic compound を ethanol にとかし極大吸収波長 (λ_{max}) を測定した。さらに各試料について 0.25N 苛性加里-ethanol 溶液を溶媒として λ_{max} を測定し，λ_{max} における吸光度を溶媒を加えた直後および 90 分後に測定してアルカリ性における褪色度を測つた。

carbonyl の定量: C. C. で分別した各区分の DNPH を CHIPAULT 等[13]の方法に準じて飽和 carbonyl, 不飽和 carbonyl に分けて定量し，vaseline-methanol 法で分離した spot を methanol で溶出したものの λ_{max} における吸光度の比によつて配分比例して各 carbonyl の含量を mol % で算出した。

溶媒の精製: ethanol および chloroform は [illegible] 2,4-dinitrophenylhydrazine を加え還流冷却器をつける3時間加熱後蒸溜して carbonyl を除去した。methanol は更に精溜を行なって蒸溜し沸点 64.1°C の区分のみを用いた。ether は硫酸々性の硫酸第一鉄飽和溶液で洗滌を繰返して過酸化物を除去した。hexane は濃硫酸で洗滌後蒸溜して芳香属化合物を除去した。

実験結果および考察

ELLIS 等[10] および GADDIS 等[11] は *n*-alkanal および alk-2-enal の DNPH の P. C. を行い，C_1〜C_6 の carbonyl は propylene glycol で，C_7〜C_{14} の carbonyl は vaseline で前処理を行つた沪紙で同定できると報告している。彼等が用いた Cheesbrough 社製の vaseline, skellysolve C および Whatman No. 3 の沪紙等は国内で入手し難いので，著者は国産の試薬・沪紙を用いて C_3〜C_{12} の *n*-alkanal および C_3〜C_5 の alk-2-enal で検討した結果，7% vaseline 処理の沪紙を用いて展開剤である methanol の濃度を増加して 96% とすることにより Table 1 で示すように C_4〜C_{12} の carbonyl を同定し得た。ただ C_3 と C_4 との R_f は近似しているのでその区別の判定は難しいようである。飽和化合物か不飽和化合物かは P.C. によつては判定し得ないので，これを判定するために λ_{max} を測定して Table 1 の結果を得た。DNPH の母体

Table 1. R_f value in vaseline-methanol system and absorption maximun of carbonyl 2, 4-dinitrophenylhydrazones.

	R_f	λ_{max} (mμ)		R_f	λ_{max} (mμ)
propanal	0.76	356	heptanal	0.64	356
2-propenal	0.72	375	octanal	0.60	356
butanal	0.75	356	nonanal	0.56	356
2-butenal	0.70	375	decanal	0.50	356
pentanal	0.70	356	undecanal	0.44	356
2-pentenal	0.66	375	dodecanal	0.24	356
hexanal	0.67	356			

Table 2. Carbonyls in steam distillate of the oxidized calamary oil methyl ester.

No. of band in column chromato.	R_f in ether-hexane system	R_f in vaseline-methanol system	λ_{max} (mμ)	Identification
D-1	0.05	0.09	385	2, 4-undecadienal
	0.98	0.75	357	butanal
D-2	0.05	0.10	385	2, 4-undecadienal
	0.98	0.75	357	butanal
	0.98	0.69	358	pentanal
D-3	0.05	0.09	385	2, 4-undecadienal
	0.98	0.69	358	pentanal
D-4	0.89	0.69	375	2-butenal
D-5	0.98	0.67	356	hexanal
	0.98	0.65	356	heptanal
D-6	0.88	0.61	374	2-heptenal
	0.88	0.58	376	2-octenal
D-7	0.88	0.57	376	2-octenal
	0.98	0.56	357	nonanal

Table 3. Carbonyls in ligroin-85% acetic acid soluble fraction of the oxidized calamary oil methyl ester.

No. of band in column chromato.	R_f in ether-hexane system	R_f in vaseline-methanol system	λ_{max} (mμ)	Identification
A-1	0.05	0.10	385	2, 4-undecadienal
	0.98	0.75	357	butanal
A-2	0.05	0.10	385	2, 4-undecadienal
	0.98	0.71	357	pentanal
A-3	0.90	0.70	375	2-butenal
	0.98	0.67	357	hexanal
	0.98	0.64	357	heptanal
A-4	0.89	0.61	375	2-heptenal
	0.89	0.57	376	2-octenal

である carbonyl の化学構造と吸収スペクトルとの関係については多くの報告がある。BRAUD 等[15] および SZMANT 等[16] は DNPH の可視部光線の吸収は主として ＞C: N- 基と ＞NH 基とによるが，母体に二重結合があるときは励起されやすい η electron が存在するために DNPH の呈色に影響を与えると述べている。この際最も顕著に影響が表われるのは λ_{max}の位置であつて, JOHNSON[17] は DNPH の母体である carbonyl を 3 群に分け，それぞれに係数を与え λ_{max} を計算によつて算出し得るような式を提唱した。ROBERTZ 等[18], BUYSKE 等[19] および JOHNES 等[20]は構造を異にする各種 aldehyde, ketone の DNPH の λ_{max} を測定し，飽和 aldehyde では 354～358mμ, 飽和 ketone では 364～367 mμ, 不飽和 aldehyde では 375 mμ にそれぞれ λ_{max} があると報告している。揮発性 carbonyl および ligroin, 85% 酢酸可溶液性区分の carbonyl の C.C. および P.C. による分離とそれぞれの λ_{max} を Table 2, 3 に示した。この表から明らかなように silica gel: celite analitical filter aid (2: 1) の C.C. では飽和化合物と不飽和化合物の分離はできなかつたが, 2, 4-dienal は例外としてその他の carbonyl の DNPH は炭素数に応じて分別された。つぎに行つた 5% ether を含んだ hexane による P.C. では大別して 3 種類の R_f が得られ，明らかに carbonyl の種類により分けられたが，同一種類に属する carbonyl はC数が異つても総て同一の R_f を示しC数を推定することすらできなかつ

た。つぎに vaseline-methanol の P.C. で得た R_f と各 spot の λ_{max} とを Table 1 で示した authentic compound のそれらと比較・参照して *n*-alkanal として butanal, pentanal, hexanal, heptanal; alk-2-enal として 2-butenal を同定した。これらの他に Table 2 すなわち揮発性 carbonyl 区分のみから nonanal が同定された。Table 1 で明らかなごとく alk-2-enal の R_f はC数の1ケ多い *n*-alkanal の R_f とほぼ同一であり，かつ λ_{max} が 375 mμ であるから，さらに 2-heptenal, 2-octenal の存在が推定される。D-1, D-2, D-3 および A-1, A-2 に含まれている λ_{max} が 385 mμ である区分は dienal と推定される。これらの区分を集め A 区分と D 区分とは別々に C.C. を行ない展開剤の ether 量を増加して 15% ether として展開し，C.C. をさらに2回くり返した後 alcohol で再結した。M.P. は D 区分のものは 132.5°C, A 区分のものは 132.0°C で FORSS 等[6]が合成 2,4-undecadienal の DNPH で報告している 133~134°C とほぼ一致した。元素分析値は Table 4 に示した。これらの結果から 2,4-undecadienal の存在を確認した。なお half aldehyde の有無を明らかにするために野中[21]の方法すなわち hexane: glacial acetic acid: xylene (5: 1: 3) で上昇法で展開したが，総ての試料は沪紙全面に流れて spot を与えず half aldehyde の存在は確認できなかつた。Table 2, 3 の λ_{max} から ketone の存在は否定されたが，さらにこれを確めるためにアルカリ性における褪色度を測定した。JOHNES 等[20]は ketone の DNPH はアルカリ性でも殆ど褪色しないと報告している。Table 2, 3 の vaseline-methanol 法で得た spot の溶出物はすべて 90 分後には 50% 内外の褪色率を示し ketone の存在はこの点からも否定された。つぎに分離・同定された carbonyl の含量を Table 5 に示した。すなわち ligroin, 85% 酢酸可溶区分の約半分は 2,4-undecadienal であるが，これに対し揮発性 carbonyl では 2,4-undecadienal は 14.34 mol % という低い値を示し，2-octenal は 26.09% であつた。この減少は蒸溜のための加熱中における 2,4-undecadienal の変化によるものと考えられる。

Table 4. Ultimate analysis of 2,4-dienal.

Fraction	C	H	N	M.P. (°C)
D	58.60	6.15	16.10	132.5
A	58.55	6.11	16.07	132.0
$C_{11}H_{18}NNHC_6H_3(NO_2)_2$ calculated	58.95	6.38	16.18	133~134

Table 5. Carbonyl content in the oxidized calamary oil methyl ester (mol %).

Carbonyl \ Fraction	Steam distillate	Ligroin 85% acetic acid soluble fraction
butanal	13.56	8.10
2-butenal	3.50	4.37
pentanal	16.72	14.84
hexanal	9.97	5.52
heptenal	6.13	7.10
2-heptenal	8.20	2.84
2-octenal	26.09	3.77
nonanal	1.49	—
2,4-undecadienal	14.34	53.46

酸化 methyl ester を酢酸分別する際に分別される ligroin 不溶性区分から得た DNPH は C.C. で P-1, 2, 3 の3区分に分別されたが，P.C. によつてもこれ以上には分別されなかつた。この3区分の元素分析の結果および nujol 法による赤外吸収スペクトルはそれぞれ Table 6, Fig. 1 に示した。Table 1 に示したようにこれらは C_{17}~C_{23} の重合体であり，赤外吸収スペクトルは3区分のものは殆んど互に差異が認められない。このスペクトルは JOHNES 等[20]が報告しているように N-H, C-H, phenyl C-C, C-N, $N-O_2$ による吸収および phenyl 基の 1,2,4 置換による吸収等典型的な DNPH による吸収を示している以外に，WITTING 等[22]が ethyl linolenate の dimer, trimer で報告している CO, CH_2-CH_2 の吸収が表われている。この外に 2.99μ における OH および 10.25μ における trans 二重結合による吸収がある。これらによつて分子中に含まれた異常に多い酸素は OH, CO の型で存在し，酸化的結合は酸素をもつたこれらの基に

Table 6. Ultimate analysis of carbonyls in ligroin insoluble fraction.

Carbonyl	C	H	N	Formula
P-1	51.55	4.86	10.48	$C_{17}H_{22}O_8$
P-2	55.96	5.87	9.13	$C_{21}H_{29}O_7$
P-3	56.15	5.82	9.76	$C_{23}H_{32}O_8$

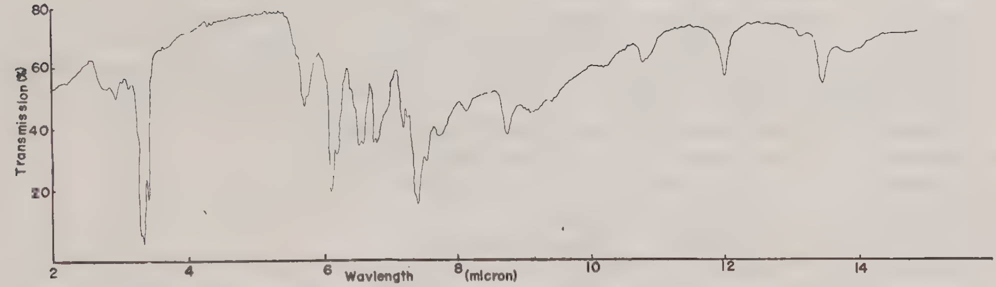


Fig. 1. The absorption spectrum of P-1 in the infrared region.

よつていると推定される。

要　　約

1. Column chromatography と paper chromatography および分光分析法とを併用して酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl を性定・定量分析した。

2. 酸化イカ肝油 methyl ester の蒸気蒸溜物および ligroin, 85% 酢酸可溶性区分からの carbonyl を 2, 4-dinitrophenylhydrazone とし，silica gel: celite analitical filter aid (2: 1) を用いる column chromatography により 2, 4-dienal 以外を分子量にしたがつて分別した。

3. 5% ether を含んだ hexane を展開剤として東洋沪紙 No. 51 を用いる paper chromatography により carbonyl を種類分けした。

4. 7% vaseline で処理した東洋沪紙 No. 51 A と展開剤として 96% methanol とを用いる paper chromatography により，種類分けした carbonyl の分離同定を行つた。

5. 蒸紙蒸溜物中には butanal, pentanal, hexanal, heptanal, nonanal, 2-butenal, 2-heptenal, 2-octenal および 2, 4-undecadienal が存在し，ligroin, 85% 酢酸可溶性区分には butanal, pentanal, hexanal, heptanal, 2-butenal, 2-heptenal, 2-octenal および 2, 4-undecadienal が存在していた。

6. Column chromatography で分別された区分と vaseline-methanol による paper chromatography で分離された spot との分光分析により飽和 carbonyl, 不飽和 carbonyl は別々に測定された。

7. Ligroin 不溶区分の重合物中の carbonyl を赤外分析・元素分析して，重合は酸素結合によつて行われると推定した。

終稿に当り，終始御懇篤な御指導を賜わつた富安教授に謝意を表する。

文　　献

1) Swift, C. E., O' Connor, R. T., Brown, L. E., and Dollear. F. G.: J. Am. Oil Chem. Soc., **26**, 297 (1949).
2) Gordon, B. E., Wopat, F., Burnham, H. D., and Jones Jr. L. G.: Anal. Chem., **23**, 1754 (1951).
3) Chang. S. S., and Kummerow, F. A.: J. Am. Oil Chem. Soc., **30**, 251 (1953).
4) Johnson, O. C., Chang, S. S., and Kummerow, F. A.: *ibid.*, **30**, 317 (1953).
5) Buss, C. D., and Mackinney, G.: *ibid.*, **32**, 487 (1955).
6) Forss, D. A., Pont, E. G., and Stark, W.: J. Dairy Research, **22**, 91, 345 (1955).
7) Pippen, E. L., Nonaka, M., Jones, F. F., and Stitt. F.: Food Research, **23**, 103 (1958).
8) Witting, L. A., and Schweigert, B. S.: J. Am. Oil Chem. Soc., **35**, 413 (1958).
9) Gaddis, A. M., Ellis, R., and Currie, G. T.: Food Research, **24**, 283, 392 (1959).

10) Ellis, R., Gaddis, A. M., and Currie, G. T.: Anal. Chem., **30**, 475 (1958).
11) 豊水正道: 本誌, **26**, 721 (1960).
12) Shriner, R. L.: The systematic identification of organic compounds p. 171 (1948).
13) Chipault, J. R., Privett, O. S., Mizuno, G. R., Nickell, E. C., and Lundberg, W. O.: Ind. Eng. Chem., **49**, 1713 (1957).
14) Gaddis, A. M., and Ellis, R.: Anal. Chem., **31**, 870 (1959).
15) Braude, E. A., and Jones, R. H.: J. Chem. Soc., 498 (1945).
16) Szmant, H. H., and Planinsek, H. J.: J. Am. Chem. Soc., **72**, 4042 (1950).
17) Johnson, G. D.: *ibid.*, **75**, 2721 (1953).
18) Roberts, J. D., and Green. C.: *ibid.*, **68**, 214 (1946).
19) Buyske, D. A., Owen, L. H., Pelham, W., and Hobbs, M. E.: Anal. Chem., **28**, 910 (1956).
20) Johnes, L. A., Holmes, J. C., anc Seligman, R. B.: Anal. Chem., **28**, 191 (1956).
21) 野中順三九: 本誌, **21**, 1248 (1956).
22) Witting, L. A., Chang, S. S., and Kummerow, F. A.: J. Am. Oil Chem. Soc., **34**, 470 (1957).

酸化魚油の抗菌作用に関する研究—III.

酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl の gas-liquid chromatography による分離・同定

豊 水 正 道

(1960 年 4 月 7 日受理)

STUDIES ON ANTIMICROBIAL ACTION OF OXIDIZED FISH OIL—III. SEPARATION AND IDENTIFICATION OF CARBONYLS IN THE OXIDIZED CALAMARY OIL METHYL ESTER BY GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY

Masamichi TOYOMIZU*

The development of gas-liquid chromatography has made possible the rapid analysis of the volatile substances. In the present study, the technique was utilized for the analysis of carbonyls in the oxidized calamary oil methyl ester.

The chromatographic separations were carried out on Hitachi KGL-2 gas-chromatograph using silicon grease as a stationary liquid phase because of its thermal stability. Plots of the logarithm of the retention time against the number of carbon atom in authentic carbonyls gave straight lines (Fig. 1, 2). Results shown in Fig. 1, 2 clearly indicate that carbonyls whose numbers of carbon are 3~6 and 7~12 can be analyzed at 90°C and 150°C respectively.

Two kinds of samples, ether extract of the steam distillate of the oxidized calamary oil methyl ester and ether extract of the steam distillate treated with 2, 4-dinitrophenylhydrazine solution in which carbonyls were converted to the unvolatile hydrazones were separated at 90°C and 150°C. The elution diagrams illustrated in Fig. 3, 4 demonstrate the successful separation and identification of propanal, butanal, 2-butenal, pentanal hexanal, heptanal, 2-heptenal, 2-octenal, nonanal, and 2, 4-undecadienal (Table 1).

In general the results agreed with those obtained by the combined use of column and paper chromatography except for separation of propanal, which indicated the superior accuracy of gas-chromatography. Unsaturated carbonyls identified by gas-liquid chromatography did not reveal any difference from those by paper and column chromatography, and a principal volatile carbonyl component in the oxidized methyl ester was 2-octenal.

著者は前報[1)]で酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl を酢酸抽出法あるいは蒸気蒸溜法で分別した後，2,4-dinitrophenylhydrazone (DNPH) として分離し，column chromatography とさらに2回の paper chromatography とを併用して固定した。この方法は試料の必要量を少量化した点および分析時間を短縮した点等において従来から行なわれている方法に比較して一段と優れている。しかしこの方法によつて分離された carbonyl 中には不飽和 carbonyl，特に不飽和基を2つもつたものも存在していたが，これ等不飽和 carbonyl が分析操作中にどのような変化をうけたかは全く明らかでない。このようにして考えると油脂の酸化生成物の分析には不安定な不飽和化合物を変化させないような簡便・敏速な分析方法がのぞまれる。

最近揮発性物質の分析に gas-liquid chromatography (G. L. C.) が盛んに用いられるようになり，油脂分

* 九州大学農学部水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

解物に関しては Cox 等[2] は steroid の側鎖を分解しその生成物を，NOWAKOWSKA 等[3] は不飽和油の酸化生成物を G. L. C. によつて分析している。G. L. C. の利点とする点は試料の少量化と分析操作の簡易および分析精度の高いことであり，沸点の高い試料では分離に高温を必要とするが，不活性の carrier gas 中で処理されるので試料は変化をうけることなく分離・同定されることは不安定な物質の分析法として特にすぐれた点である。著者はこれらの点に着目して酸化魚油中の不安定な carbonyl の分離・同定を G. L. C. によつて行なつた。

実 験 方 法

I. 実験試料

authentic carbonyl mixture: propanal, butanal, pentanal, hexanal, heptanal, octanal, nonanal, decanal, undecanal, dodecanal の飽和 carbonyl の混合物および 2-propenal, 2-butenal, 2-pentenal の不飽和 carbonyl の混合物の2種を試料とした。

酸化イカ肝油 methyl ester の蒸気蒸溜物: 1l のイカ肝油脂肪酸 methyl ester に Cu-stearate を M/100 になるように加えて，100°C で 1.5 時間，乾燥酸素吹込み下で常法により酸化したものを蒸気蒸溜して 2l の溜液を氷と食塩の混合物で冷却しながら捕集した。この溜液に食塩を飽和になるまで加えてから ether で抽出し，ether 可溶性区分は 3% $NaHCO_3$ 溶液で洗滌した後 ether を溜去した。

2,4-dinitrophenylhydrazine 処理蒸気蒸溜物: 上述のごとく常法によつて酸化した 1l の酸化イカ肝油 methyl ester を蒸気蒸溜して 500cc の 2N HCl の 2,4-dinitrophenylhydrazine 飽和溶液で受けた。蒸溜は 2l の蒸液を得るまで行なつた。これを1夜放置して carbonyl を DNPH として沈澱させ，上澄液に食塩を飽和になるまで加えてから ether で抽出した。ether 可溶性区分は水洗後，3% $NaHCO_3$ 溶液で洗滌し ether を溜去した。

II. gas-liquid chromatography

日立 KGL-2 型 gas-chromatograph を使用した。silicon grease (thermol) を固定液相とし，直径 4mm，長さ 1m のチューブに充塡したものの3本すなわち 3m の column を用いた。column 温度は 90°C，150°C で，試料室温度は 165°C に調節した。記録紙は column 温度 90°C では 1cm/分，150°C では 2cm/分 の速さで回転させた。helium を carrier gas とし 60cc/分 の量を流し，検知器のブリッヂ電流は 175mA，記録計の指度は 3mV で測定を行なつた。

実 験 結 果

I. Authentic carbonyl の gas-liquid chromatography

authentic carbonyl mixture を 90°C で分離し retention time (t_R) を測定した。その結果 octanal までは分離されたが nonanal 以上の炭素数の carbonyl は分離されなかつた。また heptanal および octanal はピークが炭素数6以下のものと比して幅が広く，高さが低く分離不良を暗示している。C_3～C_8 の飽和 carbonyl および不飽和 carbonyl の t_R と炭素数との関係は Fig. 1 に示したように t_R の対数に対し炭素数は直線関係にある。150°C で分離を行なつた場合は Fig. 2 に示したように dodecanal まで総ての carbonyl は分離され，t_R とC数とは C_3～C_{12} の carbonyl で Fig. 1 の場合と同様に t_R の対数に対し炭素数は直線関係を示している。しかし hexanal までは t_R が短く，t_R 0.2 分から 0.8 分までの間に4つの carbonyl のピークがあるから，propanal, butanal, pentanal および hexanal の同定には 90°C の分離が適当である。不飽和 carbonyl の t_R は 90°C においても，また 150°C においても相当する飽和化合物の t_R よりも長く，炭素数1個多い飽和化合物の t_R よりも常に短くて，この両者の中間にあつた。以上要するに C_3～C_6 の carbonyl は 90°C で，C_7～C_{12} の carbonyl は 150°C で分離するのが最もよく，この条件においては t_R の対数と炭素数との間には常に直線関係が成立し容易に同定し得る。

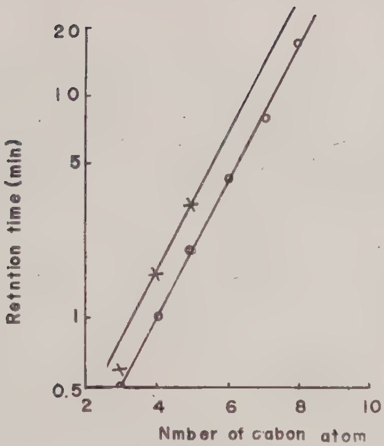


Fig. 1. A plot of the logarithm of retention time against the number of carbon atom in carbonyl compounds at 90°C.

○——○ saturated

×——× unsaturated

Column silicon grease, 3m by 4mm, Flow of helium gas. 60cc/min., Bridge current 175 mA, Recorder sens. 3 mV, Chart speed 1 cm/min., Injector temp. 165°C.

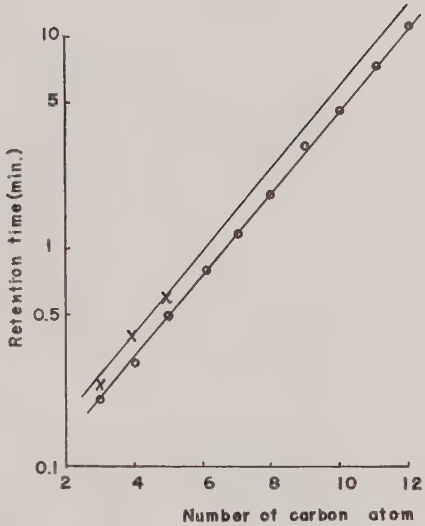


Fig. 2. A plot of the logarithm of retention time against the number of carbon atom in carbonyl compounds at 150°C.

○——○ saturated

×——× unsaturated

Column silicon grease, 3m by 4mm, Flow of helium gas, 60 cc/min., Bridge current 175 mA, Recorder sens. 3 mV, Chart speed 2 cm/min., Injector temp. 165°C.

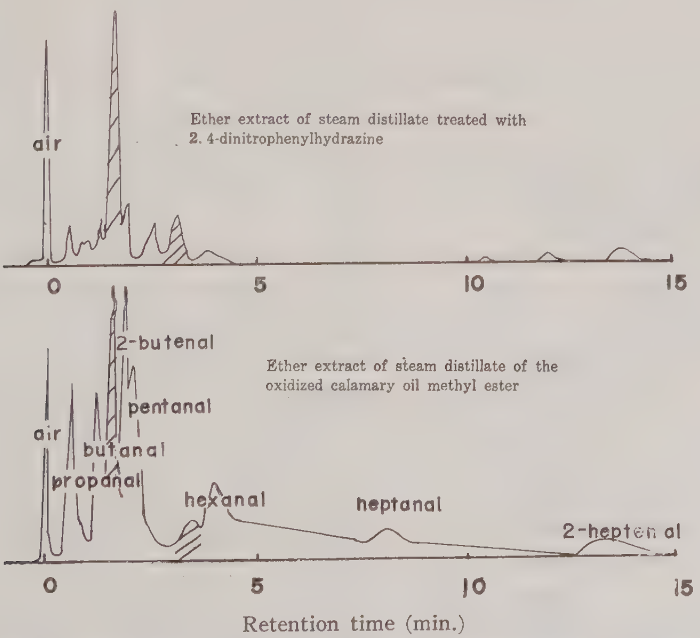


Fig. 3. Separation of carbonyls in the oxidized calamary oil methyl ester at 90°C, under the same conditions as those in Fig. 1.

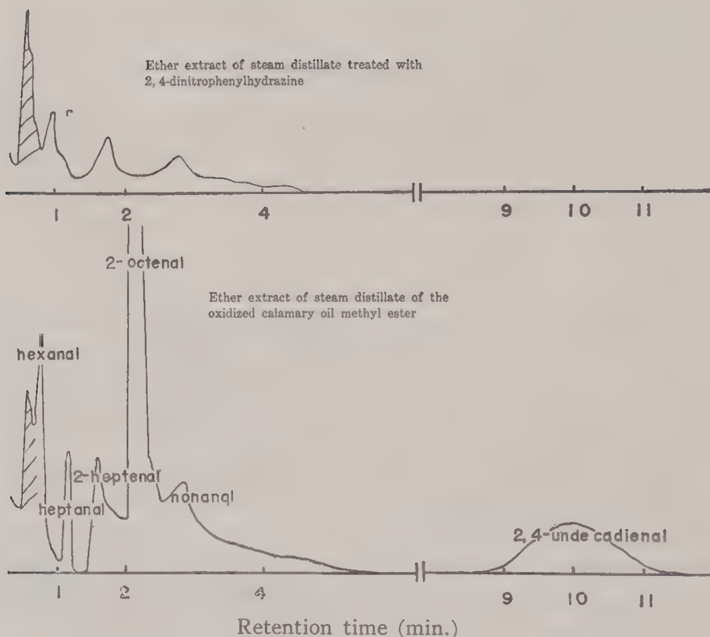


Fig. 4. Separation of carbonyls in the oxidized calamary oil methyl ester at 150°C, under the same conditions as those in Fig. 2.

II. 酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl の同定

90°C および 150°C で酸化イカ肝油 methyl ester 中の carbonyl を分離した elution diagram は Fig. 3, 4 に示した。酸化イカ肝油 methyl ester 蒸溜物の elution diagram (下段) は carbonyl 以外の成分も含んでいるかもしれないので, 2,4-dinitrophenylhydrazine で処理して carbonyl を不揮発性として除去した elution diagram (上段) と比較・参照して carbonyl 以外の成分の示す diagram を除かねばならない。この場合には量的関係を考慮する必要があるので両試料を等量宛 sampling した。その結果 Fig. 3 では t_R 1.6 分のピーク, Fig. 4 では t_R 0.6 分のピーク (Fig. 3 の t_R 3.3 分のピークに相当する) は carbonyl とは無関係のものであることを知り, さらに Fig. 1, 2 に示した t_R から同定を行なって Table 1 に示したように propanal, butanal, 2-butenal, pentanal, hexanal, heptanal, 2-heptenal, 2-octenal, nonanal, および 2,4-undecadienal を同定した。このうち 2-heptenal と 2-octenal とは標品を入手し得なかつたので不飽和 carbonyl の炭素数と t_R の対数との関係を示す直線を延長して求めた t_R (Fig. 2) で同定した。また Fig. 4 の最後のピークの t_R 10.0 分は dodecanal の t_R 10.7 分より短く, undecanal の t_R 7.0 分および 2-undecenal の t_R 9.0 分より長いので, 二重結合 2 個の C_{11} carbonyl と思われる。前報[1]で 2,4-undecadienal の存在が元素分析で確認されているので 2,4-undecadienal と推定した。このようにして分離・同定した carbonyl のうち hexanal, heptanal および 2-heptenal は

Table 1. Identification of carbonyls in the oxidized calamary oil methyl ester by gas-liquid chromatography.

Retention time (min.) 90°C	Retention time (min.) 150°C	Carbonyl
0.5		propanal
1.1		butanal
1.7		2-butenal
2.0		pentanal
4.0	0.8	hexanal
7.4	1.2	heptanal
13.0	1.6	2-heptenal
	2.2	2-octenal
	2.8	nonanal
	10.0	2,4-undecadienal

Fig. 3, 4 の両方から全く同じように分離・同定され，本法による分析が正確であることを示している。

考　察

gas-chromatography は今日まで分析不可能であつた多くの問題に解決を与へ，有機分析に画期的な進歩をもたらしたが，一種類の充塡剤が総ての分析に好結果を与えうるのではなく充塡剤の撰択は分析結果を支配する重要な因子である。本研究では carbonyl を分析するのであるから carbonyl の分離に適当な充塡剤を撰択すればよいのであるが，酸化イカ肝油 methyl ester 中には 2, 4-undecadienal が存在しているから分離のためには相当の高温度が必要であり，充塡剤はその温度に耐えるものでなくてはならない。carbonyl のように極性の強いものを分離・同定するには極性の強い固定液相が適当とされ，dioctylphthalate, dinonylphthalate, ethylene glycol 等が carbonyl の分離に好結果を与えると報告されている[4]。また TENNEY[5] は分子中に酸素をもつた化合物の分離には dipropionitrile が最も効果的な固定相であると述べている。しかしながらこれ等の固定相は何れも高温に耐え得ないので，高温に耐える固定相として polyethylene glycol 6000 を用いて 150°C で分離を試みたところ spreading が甚しく carbonyl の分離に不適であつたので silicon grease を 150°C で使用し，低温 (90°C) の分離には上記の極性の強い固定相を用いることにした。しかし silicone grease の 90°C における carbonyl の分離能は dioctylphthalate, dinonylphthalate 等と比較して劣らず，また 150°C における分離も満足すべきものであつたので silicon grease のみを用いることにした。

G. L. C. によつて分離・同定を行なう場合試料は目的とする物質以外の夾雑物を可及的に除去した濃厚なものであることがのぞましい。NOWAKOWKA[3] は酸化油の生成物を分析するのに当り酸化油をそのまま用いて同定不能の不明瞭な数多くのピークを得ている。この点からも G. L. C. では試料調製の重要であることがわかる。酸化油中の carbonyl を同定するのに当り carbonyl だけを変化させることなく純粋にとり出す方法がないので，著者は醋酸抽出法[1] と蒸気蒸溜法の 2 方法によつて分別して，G. L. C. の試料としての優劣を検討した。その結果，酢酸抽出法によつて濃縮された試料は spreading が甚しく試料として適当でなかつたので蒸気蒸溜液の ether 可溶性区分を試料とした。この蒸気蒸溜物の ether 可溶性区分には carbonyl 以外の物質が存在している。G. L. C. では同じ物質は同じ t_R を与えるが，同じ t_R を与えるから同じ物質であるという保証はないから，このような夾雑物の存在の下では試料と標品との t_R の比較のみによつては同定を行ない得ないので，推定成分の添加，特定成分の消去等の方法によつて同定することが考えられている。雨宮[6] は飽和炭化水素と不飽和炭化水素の混合物から不飽和炭化水素を G. L. C. で同定するために不飽和炭化水素を臭素化して不揮発性とする方法を用いた。著者は酸化 methyl ester の蒸気蒸溜液の ether 可溶性区分中の carbonyl を DNPH にかえて不揮発性として除去した試料の elution diagram と carbonyl を除去しない試料の elution diagram との比較から carbonyl の同定を行なつた。carbonyl を除去する方法としては 2, 4-dinitrophenylhydrazine を用いる外に dimedone も用いたが結果は全く同一であつた。Table 1 で示されている G. L. C. で分離・同定された carbonyl と前報[1] で同一操作によつて調製した試料から paper chromatography で分離・同定された carbonyl とを比較・検討してみると，G. L. C. では propanal と butanal とが分離されたが，paper chromatography では propanal を butanal から分離・同定することができず，この両者の混合体を butanal と同定した。このことから G. L. C. は paper chromatography よりも精度において勝つているが，このような例外を除いては G. L. C. で得た結果は paper chromatography で得た結果とよく一致し，Fig. 3, 4 から酸化 methyl ester 中の主要な揮発性 carbonyl は 2-octenal であることが分つた。

要　約

1. 酸化イカ肝油 methyl ester の carbonyl の分離・同定を silicon grease を固定液相とし gas-liquid chromatography によつて試みた。

2. carbonyl の炭素数と retention time の対数との間には直線関係が成立し， C_3〜C_6 の carbonyl は 90°C で C_7〜C_{12} の carbonyl は 150°C で分離・同定された。

3. 酸化イカ肝油 methyl ester の蒸気蒸溜物と 2, 4-dinitrophenylhydrazine で処理して carbonyl を不揮発性とした蒸溜物とを試料とし，90°C および 150°C で gas-liquid chromatography を行なつた。

4. これ等の elution diagram を比較・検討して， propanal butanal, 2-butenal, pentanal, hexanal, heptanal, 2-heptenal, 2-octenal, nonanal, 2, 4-undecadienal が分離・同定された。

5. paper chromatography では分離されなかつた propanal が gas-liquid chromatography では分離され，後者の精度が前者よりすぐれていることがわかつた以外は両者の分析結果はほぼ同一であつた。

終稿に当り，終始御懇篤な御指導を賜つた富安教授に謝意を表する。

文　　献

1) 豊水正道： 本誌，**26**，726 (1960).
2) Cox, J., High, L. B.: Proc. Chem. Soc., 234 (1958).
3) Nowakowska, J., Melvein, E. H., and Wiebe, R.: J. Am. Oil Chem. Soc., **34**, 411 (1957).
4) 後藤良造・荒木長男： 化学の領域，**12**, 826 (1958).
5) Tenney, H. M.: Anal. Chem., **30**, 2 (1958).
6) 両宮良三： ガスクロマトグラフィー，p. 29 (1958).

魚体表面の粘性物質に関する研究—I.

ドジョウの体表面粘性物質の化学的性質*

榎 本 則 行・富 安 行 雄

(1960 年 4 月 20 日受理)

STUDIES ON THE EXTERNAL MUCOUS SUBSTANCE OF FISHES—I. ON THE CHEMICAL PROPERTIES OF THE MUCOUS SUBSTANCE OF LOACH, *MISGURNUS ANGUILLICAUDATUS* CANTOR.

Noriyuki ENOMOTO and Yukio TOMIYASU**

The present work is an attempt to elucidate the chemical properties of the external mucous substance of loach. The precipitation test, the identification of amino acids and carbohydrates by paper chromatography, and the quantitative analysis of the polysaccharide were employed.

The external mucous substance of loach was prepared by dipping living loaches in ethanol, scraping the mucous substance carefully from the whole surface of the body, washing it with ethanol and drying it in vacuo. Greyish powder was obtained. Sample for identification of amino acid component was repeatedly dissolved in 0.1% sodium hydroxide and precipitated at pH 4.0 with dilute hydrochloric acid. Sample for analysis of carbohydrate was prepared by hydrolyzing with pepsin and trypsin. The results obtained are as follows:

1) The result of precipitation test of the external mucous substance is shown in Table 1. All reagents used for the protein precipitation took effect, but heating was futile.

2) 16 amino acids were identified and the presence of an unidentified amino acid was detected (Fig. 1).

3) Ribose, arabinose, glucose, galactose, glucosamine and chondrosamine were identified.

4) It seems that the polysaccharide of the external mucous substance is composed of hexose and hexosamine at equimolar ratio.

動植物界を通じて，粘性物質の作用については生体機能の円滑化，外囲環境に対する保護作用などが挙げられている。魚体表面の粘性物質についても同様の生理作用が考えられるが，未だ殆んど不明のままの状態である。

ドジョウの体表面粘性物質（以下粘質物と略称する）は腫物の解熱剤として使用されており，ウナギの粘質物は解熱剤を作つたり[1]，強壮剤にされたり[2]して薬用的にも興味があるが，その作用本態についての研究は見当らない。

左右田等[3]はボウシウボラの鰓下腺から acetone を用いて固化粘質物を得，これについて沈澱反応を試みた後，還元糖量を測定している。小幡等[4,5]は鮭の粘質物から picrolonate を作つて揮発性塩基成分を研究し，八坂等[6,7]はヒイラギ，ナマズの粘質物についてアミノ酸組成，糖組成を報告しているが未決解の点が多い。FERRY[8] は hagfish の粘質物について述べ，最近 WESSLER 等[9] は plaice, cod, whiting, eel, pike, ray および hagfish の粘質物を集めアミノ酸組成，糖組成を示した。ドジョウの粘質物については鶴見等[10]の報告がある。著者等[11,12,13]は先にドジョウの粘質物が防腐剤と拮抗的に作用することおよびそれ

* 本報告の一部は 1957 年 10 月 10 日，日本水産学会秋季大会（函館）において発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

を細菌培地とした場合の菌の増殖について報告したが，これらに関連して更に基礎的な研究の必要を痛感した。本報はドジョウの粘質物の化学的性質について調べた結果の記載である。

実験および考察

I. ドジョウ粘質物の調製

前報[11]に準じて行つた。すなわち生きたままのドジョウを ethanol 中に投入し白く凝固した粘質物を注意深くこさぎとつた。これを ethanol で数回洗滌後，減圧乾燥，粉砕した粗製粉末を試料とした。灰白色の粉末で収量は 0.4～0.5% であつた。

II. ドジョウ粘質物の沈澱反応

粉末粘質物は水に殆んど溶けないが，アルカリに溶けて粘性を示す。0.1% NaOH を用い，1% の濃度になるように粉末粘質物を加え 30°C に 1 夜放置後，HCl で中和して遠心分離した上澄を試料とした。結果を Table 1 に示した。

Table 1. Precipitation test of the external mucous substance of loach.

Test	Precipitation	Remark
Heat coagulation	—	faint turbidity
Trichloroacetic acid	+++	
Phosphotungstic acid	+++	
Tannic acid	+++	
Lead acetate (dil. soln.)	+++	
Cupric sulfate (dil. soln.)	+++	
25% mercuric acetate soln.	+++	soluble by saturation with NaCl
Sulfosalicylic acid	+++	
Acetic acid (dil. soln.)	+++	soluble in glacial acetic acid
Hydrochloric acid (dil. soln.)	+++	soluble in conc. hydrochloric acid
Nitric acid (conc. soln.)	+++	soluble in excess nitric acid, colour turning yellow
Saturation with NaCl	+++	
Saturation with $(NH_4)_2SO_4$	+++	
Saturation with Na_2SO_4	+++	
Ethanol	+++	

使用したすべての蛋白沈澱剤によつて沈澱を生ずるが，加熱によつては殆んど沈澱は生じない。しかし粉末粘質物の濃度が 2%，3% と高くなると濃度に比例して混濁が増加する。うすい酢酸，塩酸によつて生じた沈澱はいずれもそれぞれの濃酸によつて溶解し水で稀釈すれば再び沈澱する。この点は大濱等[6]の[illegible]粘質物と一致する。石田等[3]によると，[illegible]の鰓下腺粘液は acetic acid, sulfosalicylic acid, ferric chloride, lead acetate で沈澱し，銀塩，水銀塩では沈澱しないという。ドジョウ粘質物が加熱によつて非凝固である点は共通しているが，水銀塩でも沈澱する点は異つている。

III. ドジョウ粘質物の構成アミノ酸

粗製粉末粘質物は小さな鱗を含んでいるのでこれを除くためにつぎの操作を行つた。粉末 2g に 0.1% NaOH 400cc を加え 30°C に 1 夜放置して溶解させ，遠心分離して上澄液をとり稀塩酸で pH 4.0 とし，生じた沈澱を遠心分離して集めた。この操作を再び繰返して，得られた沈澱を ethanol で 2 回洗滌後，さらに acetone, ether で洗つて乾燥した。

この精製粘質物を常法に従つて 8N HCl で 10 時間加水分解し，減圧濃縮を 3 回反復して HCl をできるだけ除き，得られた茶褐色の濃縮液を paper chromatography の試料とした。

展開沪紙は東洋沪紙 No. 51 (40×40 cm), 展開溶媒は一次元 phenol : 水 (8 : 2), 二次元 *n*-butanol : 酢酸 : 水 (4 : 1 : 2) を用い ninhydrin で発色せしめた。別に標準アミノ酸 (味の素製, paper chromatography 用試薬) 混液を同一条件で同時に展開し, これと対比することにより各 spot を同定した。結果は Fig. 1 に示した。

cystine, lysine, histidine, glycine, aspartic acid, serine, glutamic acid, arginine, threonine, alanine, proline, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, leucine の 16 種のアミノ酸を認めた。図の spot K は標準アミノ酸の展開結果と比較すると hydroxyproline の位置に近いが, 呈色が薄紫赤色を示すので同定し得なかつた。spot の大きさ, 呈色度から見て aspartic acid, glutamic acid, lysine, threonine, valine, leucine が多く, histidine, tyrosine, methionine が少いと推定される。

既報[11]のように粘質物は xanthoproteic reaction, HOPKINS-COLE test が陽性なので tryptophan が存在すると考えられるが, 酸分解を行つたため認め得なかつた。

飯藤[14]は市販ペプトン並びに肉エキスの遊離アミノ酸について研究し, glycine, arginine, histidine, lysine, methionine, tryptophan, leucine, glutamic acid, proline, tyrosine, cystine を認め, さらに 3 回加熱すると valine, phenylalanine が出現することを見ている。ドジョウ粘質物のアミノ酸組成を先に報告した細菌培地[12]としての見地から検討すると, 含量の点を無視すれば bouillon 中に存在するアミノ酸は全部揃つているわけで, 粘質物の加水分解物中では菌の増殖が良好な理由もうなづける。

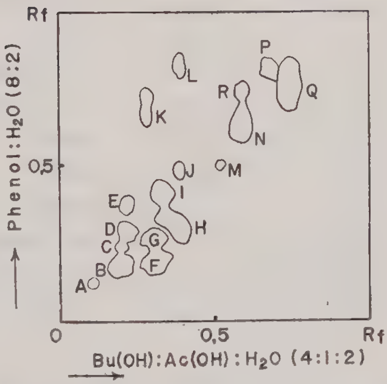


Fig. 1. Two-dimensional paper chromatogram showing the amino acid pattern of the external mucous substance of loach.

A	Cystine	J	Alanine
B	Lysine	K	?
C	Histidine	L	Proline
D	Glycine	M	Tyrosine
E	Arginine	N	Valine
F	Aspartic acid	P	Phenylalanine
G	Serine	Q	Leucine
H	Glutamic acid	R	Methionine
I	Threonine		

IV. ドジョウ粘質物の hexose および hexosamine 含量

粗製粘質物粉末中の hexose および hexosamine 含量を RIMINGTON 法[15]によつて定量し, hexose (as galactose) 6.15%, hexosamine (as glucosamine) 4.68% を得た。なお全窒素量は 12.3% であつた。これらの価は粗粉末中に鱗を含んでいるので一応の目安にすぎない。鱗を除くために稀アルカリ, 稀酸を用いて前記のような精製法を行つたものは hexose 含量が 3.08% であつた。TILLMANS 等[16] は大豆蛋白質中の carbohydrate を定量する際, 蛋白質をアルカリに溶かして酸でおとすという精製をくり返すと carbohydrate 含量は 1 回目19.7% を示したものが 2 回目には 9.7%, 4 回目には 7.7% にまで低下したことを述べている。粘質物中の hexose 含量が精製操作によつて低下したのもこれと一致する。

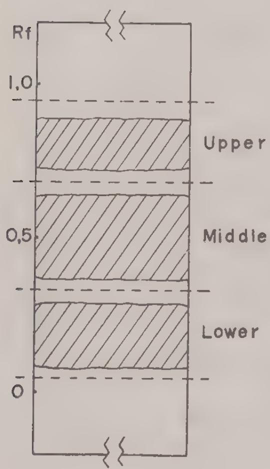
鶴見等[10] はドジョウの粘質物中に galactose 9.77%, glucosamine 17.86% を含むことを報告している。試料の調製法もかなり異つているが, 著者等の結果とは大きな差がある。

V. ドジョウ粘質物の構成糖

粗製粘質物粉末を堀口[17]の方法 (MEYER[18]の変法) によつて酵素分解し polysaccharide を得た。白〜灰白色粉末で収量は約 4% であつた。このものは FEHLING 還元性を示さないが, 加水分解すると強い還元性を示した。この粉末に 30 倍容の 0.5 N HCl を加えて 5 時間加水分解後, 減圧濃縮 (50°C 以下) をくり返して paper chromatography の試料とした。

a) Paper chromatography による糖の分別

東洋沪紙 No. 51 (40×40 cm) の下縁から 6.5 cm の距離に帯状に全試料をひき, phenol : 水 (8 : 2) で 3 回多重展開して Fig. 2 のように 3 区分に分離し得た。この 3 区分を切りとつて 45°C の温水で抽出, 各



区分を濃縮して Upper, Middle, Lower の3試料を作つた。これらの3区分についての各種溶媒による展開結果をまとめて Fig. 3 に示した。

b) Upper part の糖の同定

この区分に存在する糖は pentose, methylpentose と推定される。aniline hydrogen phthalate で呈色させると，前者は赤色，後者は黄色に発色し判別が容易である。4種の溶媒による展開結果から arabinose, ribose と同定した。

c) Middle part の糖の同定

呈色試薬は aniline hydrogen phthalate を用いた。この区分は hexose から成り褐色に呈色する。phenol : 水 (8 : 2) で多重展開した結果， 2つ

Fig. 2. Fractionation of sugar components of the external mucous substance of loach by paper chromatography.
Multiple development with phenol : water (8 : 2) was employed. 3 parts were separated and extracted with water at 45°C.

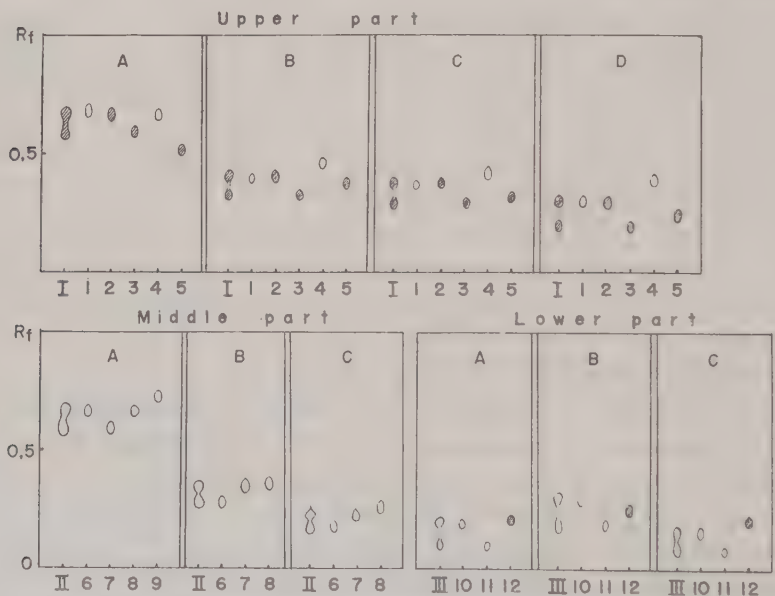


Fig. 3. Paper chromatogram showing sugar components of the external mucous substance of loach.

Solvent
- A ; phenol : water (8 : 2). multiple development
- B ; *n*-butanol : acetic acid : water (4 : 1 : 2)
- C ; butylacetate : ethanol : acetic acid : water (3 : 2 : 1 : 1)
- D ; *n*-butanol; ethanol : water : ammonia (40 : 10 : 49 : 1)

I, II, III; fractional sample in Fig. 2.
1; fucose, 2; ribose, 3; arabinose, 4; rhamnose, 5; xylose, 6; galactose, 7; glucose, 8; mannose, 9; fructose, 10; glucosamine, 11; chondrosamine, 12; glucuronic acid.

Colour reagent; aniline hydrogen phthalate in upper and middle part.
p-anisidine-HCl in lower part.

Oblique lined spots show red～pink colour and white spots show yellow (in upper part) and brown colour (in middle and lower part).

の spot の内 Rf の小さい方は glucose であるが，Rf の大きい方は galactose および mannose と Rf が接近し判然としなかつた。そこでさらに他の2種の溶媒による展開を行うと，この場合は galactose の Rf が glucose よりも小となるので mannose と区別し得る。従つてこの部分は glucose, galactose と同定した。

d) Lower part の糖の同定

この区分に存在するものは酸性糖，塩基性糖と推定される。酸性糖は *p*-anisidine-HCl で呈色させると赤色を示し特異的である。これに反し塩基性糖は褐色に発色するので判別が容易である。

chondrosamine の同定は純品が入手できなかつたので chondroitin-sulfuric acid の加水分解物を用いた。粗製の chondroitin-sulfuric acid は加水分解すると，glucosamine, chondrosamine, galactose, glucuronic acid の4つの spot を示す[19]ので，この結果を追試しこれを用いて粘質物中の chondrosamine の同定を行つた。

3種の溶媒による展開結果から glucosamine, chondrosamine を認めたが，酸性糖は認められなかつた。

以上3区分の結果を綜合して，ドジョウ粘質物構成糖は arabinose, ribose, glucose, galactose, glucosamine, chondrosamine の6種と同定した。この内 arabinose を除く他の糖は動物性粘質物中にしばしば見出されているが，arabinose がドジョウ粘質物中に認められたのは注目すべきであろう。arabinose は天然に存在する aldopentose として結核菌の多糖類，尿，アラビヤゴム，甜菜等に見出されているが，動物性粘質物中に見出されたのは始めてであると思う。鶴見等[10]はドジョウ粘質物の呈色反応を試み，methylpentose および pentose 反応が陰性であると述べたが，pentose は存在する。

VI. ドジョウ粘質物の polysaccharide の組成

前記 polysaccharide の hexose, hexosamine の組成を知るため，nitrogen (N), hexose, hexosamine, acetyl 基を定量した。N 量は micro-KJELDAHL 法，hexose は TREVELYAN 等[20] の anthrone 呈色法，hexosamine は RIMINGTON[15] の acetylacetone および *p*-dimethylaminobenzaldehyde による呈色法，acetyl 基は KÖGL 法[21] によつて測定した。

結果を Table 2 に示した。

mol 比は完全な整数比を示さなかつたが，これは試料の純度が低いためであろう。acetyl 基が高い値を示したが，鶴見等[10] によれば glucosamine と acetyl 基の mol 比は 1 : 2.31 を示し，direct OSAKI-TURUMI test が陽性であつたと述べているので sialic acid (acylated neuraminic acid) の存在が考えられる。これについてはさらに検討し度い。

Table 2. Quantitative analysis of the polysaccharide obtained from the external mucous substance of loach.

	Per cent	Equivalent per equivalent weight
Nitrogen	6.35	
Hexosamine as glucosamine	22.52	1.00
Hexose as galactose	27.63	1.15
Acetyl	6.95	1.23

以上の結果から粘質物 polysaccharide は hexose : hexosamine = 1 : 1 の結合をしているものと考える。

摘　　要

1) ドジョウの体表面粘性物質の化学的性質を調べ，その沈澱反応，構成アミノ酸，構成糖および polysaccharide の組成を明らかにした。

2) ドジョウの体表面粘性物質溶液は加熱凝固は示さないが，供試したすべての蛋白沈澱剤によつて沈澱を生じた (Table 1)。

3) ドジョウの体表面粘性物質の構成アミノ酸として，cystine, lysine, histidine, glycine, aspartic acid, serine, glutamic acid, arginine, threonine, alanine, proline, tyrosine, valine, methionine,

phenylalanine, leucine の 16 種を同定，不明のアミノ酸1種を認めた。なお呈色反応により tryptophan の存在が推定された。

4) ドジョウの体表面粘性物質の構成糖として，arabinose, ribose. glucose, galactose, glucosamine, chondrosamine の6種を認めた。

5) ドジョウの体表面粘性物質の polysaccharide は hexose : hexosamine = 1 : 1 の比で結合しているものと推定した。

文　　献

1) 沼野井春雄: 特許公告 No. 732, 昭 24. 3. 11.
2) 久保通猷: 特許公告 No. 64, 昭 6. 1. 9.
3) 左右田徳郎・服部親宏・寺崎広節: 日化, **57**, 981 (1936).
4) 小幡弥太郎・山西　貢: 本誌, **15**, 554 (1950).
5) 小幡弥太郎・山西　貢: 本誌, **16**, 361 (1951).
6) 八坂　茂・松本敬一: 長崎大水産報告, No. 2, 51 (1954).
7) 八坂　茂・田端義明・増元　勲: 長崎大水産報告, No. 3, 43 (1955).
8) FERRY, J. D.: *J. Biol. Chem.*, **138**, 263 (1941).
9) WESSLER, E. and WERNER, I.: *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1240 (1957).
10) TURUMI, K. and SAITO, Y.: *Tohoku J. Exp. Med.*, **58**, 247 (1953).
11) 富安行雄・榎本則行: 九大農学芸誌, **16**, 323 (1957).
12) 榎本則行・富安行雄: 九大農学芸誌, **16**, 601 (1958).
13) 榎本則行・古森善裕・富安行雄: 九大農学芸誌, **16**, 609 (1958).
14) 飯藤謙三: 仁泉医学, **5**, 82 (1954).
15) RIMINGTON, C.: *Biochem. J.*, **34**, 931 (1940).
16) TILLMANS, J. und PHILLIPPI, K.: *Biochem. Z.*, **215**, 36 (1929).
17) 堀口吉重: 本誌, **22**, 463 (1956).
18) MEYER, K., LINKER, A., DAVIDSON, E. A., and WEISSMANN, B.: *J. Biol. Chem.*, **205**, 611 (1953).
19) MASAMUNE, H., YOSIZAWA, Z., and MAKI, M.: *Tohoku J. Exp. Med.*, **53**, 237 (1951).
20) TREVELYAN, W. E., and HARRISON, J. S.: *Biochem. J.*, **50**, 298 (1952).
21) 船久保英一: "有機化合物確認法", 上巻, 養賢堂, 東京, (1954), pp. 92.

魚体表面の粘性物質に関する研究—II.

マアナゴの体表面粘性物質の化学的性質*

榎本則行・長尾忠明・富安行雄

(1960 年 4 月 20 日受理)

STUDIES ON THE EXTERNAL MUCOUS SUBSTANCE OF FISHES—II. ON THE CHEMICAL PROPERTIES OF THE MUCOUS SUBSTANCE OF CONGER, *ASTROCONGER MYRIASTER* BREVOORT.

Noriyuki ENOMOTO, Tadaaki NAGAO and Yukio TOMIYASU**

Our interest has been aroused by the fact that there are considerable dissimilarities in the external appearance among the external mucous substance of various species of fishes. The external mucous substances of loach and conger have a different appearance from each other, and these two kinds of fishes live in different conditions, that is, one in fresh water and the other in salt water. So, the external mucous substances of these fishes are assumed to have some chemical properties different from each other. In the present paper, with a view of elucidating the dissimilarity in the external appearance, the chemical properties of the external mucous substance of conger were studied, and compared with those of loach previously reported by us[1].

While the 0.1% NaOH soluble matters of the external mucous substance of conger were very similar to those of loach with regard to protein precipitation and amino acid composition, the carbohydrate components of the former, having fucose instead of arabinose and no glucose, were different from those of the latter.

多数の魚類についてその体表面の粘性物質（以下粘質物と略称する）を比較すると外観的には，ドロドロして粘性の弱いもの，軟かくても粘性の強いもの，固いゼリー状のものなどがあり，また魚体が水中から揚げられた場合ヒイラギ，アジなどの粘質物は容易に脱落するのに対し，ドジョウ，ウナギ，マアナゴなどは脱落し難いなどかなりの差異が認められる。前報[1]で述べたドジョウは粘質物が軟かく粘性が強いものであつたが，本報のマアナゴは固くゼリー状のものである。マアナゴとドジョウの粘質物の化学的性質に差異が認められれば前記のような外観的相違を明らかにする手がかりが得られるであろう。またこの両者は生活環境が海水と淡水というふうに違うので粘質物組成にも差があるかもしれない。今回は海産のマアナゴの粘質物について検討した結果を報告する。

実験および結果

実験方法はすべて前報[1]と同様である。

I. マアナゴ粘質物の沈澱反応

蛋白沈澱剤に対する反応はドジョウの場合[1]と同様で，すべて白色の沈澱を生じた。

粉末粘質物の 1% 溶液 (0.1% NaOH に溶かし HCl で中和した沪液) は加熱によつて凝固せず，薄い酢酸，塩酸で生じた沈澱がそれぞれの濃酸によつて溶解することなどドジョウと全く差異を認めなかつた。

---

* 本報告は 1958 年 11 月 8 日，日本水産学会九州支部大会（鹿児島）において発表した。
** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

II. マアナゴ粘質物の構成アミノ酸

粗製粉末粘質物の 0.1% NaOH 可溶部から前報[1]と同様の条件で精製粘質物を調製し，これを加水分解した。二次元 paper chromatography によつて展開して同定し得たアミノ酸は cystine, lysine, histidine, glycine, aspartic acid, serine, glutamic acid, arginine, threonine, alanine, proline, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, leucine の 16 種で，ドジョウと同様の不明 spot が一つ存在した。結果を Fig. 1 に示した。

呈色反応*から tryptophan の存在が推定された。なお isoleucine の存在がほぼ確実と思われるが leucine との分離が不充分であつたので推定の域を出ない。

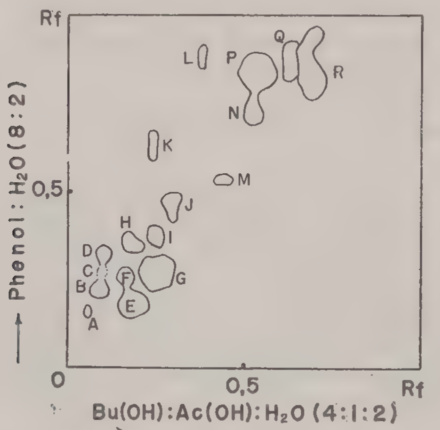


Fig. 1. Two dimensional paper chromatogram showing the amino acid pattern of the external mucous substance of conger.

A	Cystine	J	Alanine
B	Lysine	K	?
C	Histidine	L	Proline
D	Glycine	M	Tyrosine
E	Aspartic acid	N	Valine
F	Serine	P	Methionine
G	Glutamic acid	Q	Phenylalanine
H	Arginine	R	Leucine
I	Threonine		

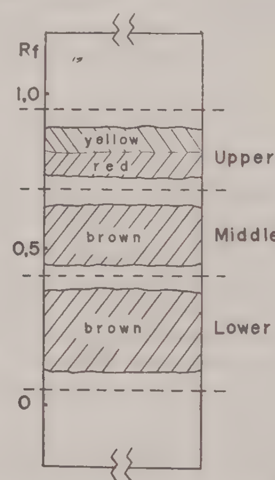


Fig. 2. Fractionation of sugar components of the external mucous substance of conger by paper chromatography.

Multiple development with phenol: water (8 : 2) was employed.

Upper part showed red and yellow colour zone with aniline hydrogen phthalate, and middle and lower parts showed brown colour with the same reagent.

III. マアナゴ粘質物の構成糖

前報[1]に従い酵素分解して得た polysaccharide を加水分解し，東洋沪紙 No. 51 (40×40cm) に全試料を帯状にひいて phenol : 水 (8 : 2) で 3 回多重展開，Fig. 2 のような 3 区分 (それぞれ Upper, Middle, Lower 区分とす) に大別し，それぞれを温湯で抽出した。この 3 区分についてそれぞれ paper chromatography を行つた。溶媒としては phenol : 水 (8 : 2), butylacetate : ethanol : 酢酸 : 水 (3 : 2 : 1 : 1), *n*-butanol : 酢酸 : 水 (4 : 1 : 2), *n*-butanol : ethanol : 水 : ammonia (40 : 10 : 49 : 1) を試みたが，前二者が最も分離がよく判定も容易であつた。この前二者による結果を Fig. 3 に示した。

Lower 区分の chondrosamine の同定は純品が入手できなかつたので前報[1]と同様に chondroitin-sulfuric acid の加水分解物を利用した。

以上の結果から，Upper 区分は fucose, ribose, Middle 区分は galactose, Lower 区分は glucosamine, chondrosamine と同定した。

* xanthoprotein 酸反応，HOPKINS-COLE の反応がともに陽性であつた。

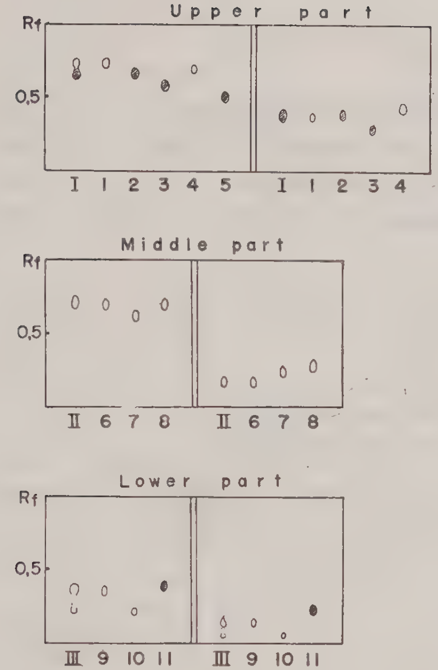


Fig. 3. Paper chromatogram showing sugar components of the external mucous substance of conger.

Solvent: A; phenol : water (8 : 2) multiple development
B; butylacetate : ethanol : acetic acid : water (3 : 2 : 1 : 1)

I, II, III; fractional sample in Fig. 2.
1; fucose, 2; ribose, 3; arabinose, 4; rhamnose, 5; xylose, 6; galactose, 7; glucose, 8; mannose, 9; glucosamine, 10; chondrosamine, 11; glucuronic acid.

Colour reagent; aniline hydrogen phthalate in upper and middle part.
p-anisidine-HCl in lower part.

Oblique lined spots show red～pink colour, and white spots show yellow (in upper part) and brown colour (in middle and lower part).

Table 1. Quantitative analysis of the polysaccharide obtained from the external mucous substance of conger.

	Per cent	Equivalent per equivalent weight
Nitrogen	6.07	
Hexosamine as glucosamine	9.81	1.00
Hexose as galactose	11.04	1.11
Acetyl	3.12	1.31

酵素分解によつて得た polysaccharide の，hexose と hexosamine の結合比を求めるため前報[1]と同様の方法で定量した結果を Table 1 に示した。

この結果から hexose : hexosamine = 1 : 1 の結合をしていると考えられる。

考察

マアナゴ粘質物の 0.1% NaOH 可溶部の蛋白沈澱反応および構成アミノ酸は前報[1]のドジョウ粘質物のそれと全く同一で，粘質物の外観的な差異の原因をアミノ酸組成に帰することは不可能であつた。paper chromatogram の spot の大きさ，呈色度などから量的な差を比較すると threonine, serine, lysine がドジョウに多く，マアナゴには少いようである。これに反し methionine はドジョウに少くマアナゴに多いと推定されたが，これが外観的な差異の大きな要因となるとは考えられない。粘質物の粗製粉末を 0.1% NaOH に溶かした場合，ドジョウは溶解し易く粘性が強いが，マアナゴは不溶解部分が多く粘性も弱くて不溶解部は膨潤してゼリー状を呈していた。構成アミノ酸を調べた試料はこの 0.1% NaOH 可溶部を pH 4.0 にして得た沈澱であるから，マアナゴとドジョウの粘質物の外観的な差異の原因はこの不溶解部にあるのではないかとも考えられ，これについてはさらに検討したい。

構成糖においては差異が見られた。すなわちドジョウに認められた arabinose がマアナゴにはなく，代りに fucose が存在し，また glucose を欠いでいた。構成糖に差異が見られたことは興味をひくが，これが外観的差異に関係があるのか，海水，淡水という環境条件によるものか，あるいはまた魚種の相違による本質的なものかなどについては，さらに多くの魚の粘質物について検討した結果にまたねばならない。魚類粘質物に炭水化物が存在することはすでに知られている[2,3,4]が，hexose, hexosamine として定量値を示したものが多く，個々の構成糖については WESSLER 等[4]の 7 種の魚 (plaice, cod, whiting, eel, pike, ray および hagfish) についての報告が詳しい。WESSLER 等[4]は ray を除く 6 種の魚の粘質物が構成糖の一つとして mannose を含むことを見出し，その存在意義について論議している。著者等もこの点については充分に留意して実験を進めたが，ドジョウの場合と同様，マアナゴ粘質物においても mannose の存在を認め

ることはできなかつた。

摘　　要

マアナゴとドジョウの体表面の粘性物質は外観的に非常に差があり，生活環境も海水，淡水とちがうのでマアナゴ粘性物質の化学的性質を調べ，既報[1]のドジョウのそれと比較検討した。その結果，マアナゴ粘性物質の 0.1% NaOH 可溶部については蛋白沈澱反応，構成アミノ酸の種類においてドジョウと同一であつた。マアナゴ粘性物質の構成糖にはドジョウに存在した arabinose がなくて代りに fucose が存在し glucose を欠く点で明らかな差異が認められた。

文　　献

1) 榎本則行・富安行雄： 本誌，**26**，739 (1960).
2) FERRY, J. D.: *J. Biol. Chem.*, **138**, 263 (1941).
3) TURUMI, K., and SAITO, Y.: *Tohoku J. Exp. Med.*, **58**, 247 (1953).
4) WESSLER, E., and WERNER, I.: *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1240 (1957).

魚肉すり身の保水性—II.

すり身の保水性に対する pH の影響

志水 寛・藤田功夫・清水 亘

(1960 年 4 月 26 日受理)

WATER RETENTION OF FISH MUSCLE PASTE—II. EFFECT OF PH ON THE WATER-HOLDING CAPACITY

Yutaka SHIMIZU, Isao FUJITA and Wataru SIMIDU*

The water-holding capacity of fish meat pastes with salt added or non-added was determined for fresh and heated pastes by using the filter paper method[1].

The free water areas as a function of the pH of the meat pastes closely related to the solubility of the muscle proteins as a function of the pH of the extractants. This suggests that the dependence of the water-holding capacity on the pH be due to a competition between the intermolecular aggregation force of the protein and its affinity to ions such as Na^+, Mg^{++}, Ca^{++}, etc. and the water dipole.

When the pastes were heated, the free water vs. pH curves shifted toward higher pH values. This shift occurred in the same fashion as in the heat coagulation curves of the muscle protein suspensions. These results indicate that the electrostatic properties of muscle proteins changed in the course of heat denaturation in which the proteins may unfold their peptide chain; the displacement of the ionic groups on the surface of the particles and as a result the changes in the ion-protein interactions may take place in this chain unfolding.

本報では，すり身の保水性に影響を与える要因として pH の問題をとり上げ，その保水性との関係をしらべるとともに，すり身の加熱の際にその関係がどのように変化するかを検討し，すり身のゲル化の機構について若干の考察を加えようとした。

実 験 方 法

1. すり身の保水力試験

試料の調整： 新鮮なマエソ（漁獲後 10～15°C で 1 日経過）の背側筋を等量の氷冷水とともにブレンダーにかけて均質な肉糊とする。得られた肉糊の 20g づつに所定量の 1-N NaOH または 1-N HCl を加えてよく攪拌し，pH を異にする 11 種類の試料 2 組を調製する。この際，加えたアルカリまたは酸の量を一定にするために水を補足し，酸またはアルカリとの合計量が 1.4 *ml* となるようにする。2 組の試料肉糊のうち，1 組はそのまま，他の組に対してはすべて肉糊中の水分に対して 0.5M 濃度となるように食塩を加えてよく攪拌する。これらの試料の pH と酸またはアルカリの添加量の関係は Fig. 1 のようであつた。

沪紙法による保水力試験法： 調製後一夜放置 (4°C) した試料について，前報[1]の方法で加熱前後の保水性を評価する。すなわち，生すり身のばあいは，0.30g の試料を直径 9cm の円形沪紙（東洋沪紙 No. 51）の上にとり，これを 2 枚のガラス板の間にはさんで加圧し (18kg)，7 分間に沪紙上に展開した水の面積および肉糊の面積をもつて保水性の指標とする。加熱すり身の保水性を判定するには，0.30g の試料を沪紙上に

* 京都大学農学部 (Lab. of Fish. Chem., Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

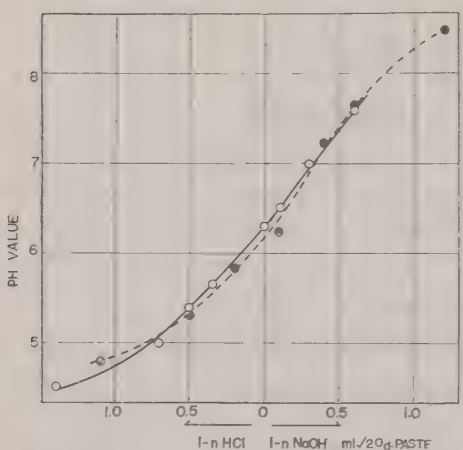


Fig. 1. Titration curves of meat paste.
Paste was prepared by homogenizing lizard fish muscle with the equal volume of water.
—○— : non-added paste.
- - -●- - - : 3% NaCl-added paste.

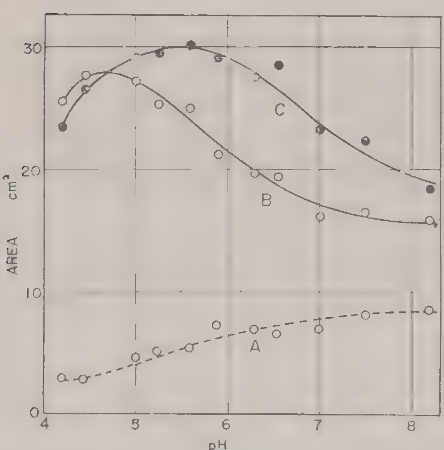


Fig. 2. Effect of pH on the water-holding capacity of non-added paste.

Curve A: meat film area in raw paste, Curve B: wetted area (free-water area) pressed out of raw paste, Curve C: wetted area (free-water area) pressed out of heated paste. Meat film area in heated paste was fixed to 5 cm².

5 cm² の大きさまで押しひろげ，ガラス板の間に挾んで 90~95°C で 2 分間加熱した後，冷却しながら 2 kg の荷重をかけて加圧し，5 分間に沪紙上に滲出，展開する[illegible]等をもつてする。

2. 肉蛋白溶液の熱凝固試験

新鮮なエソ肉の挽肉 45 g を冷水でよく洗滌した後，0.55 M NaCl 570 ml とともにブレンダーにかけた後，一夜放置 (4°C) して，綿布で沪過する。沪液の 20 ml づつを試験管にとり，これに N/10 NaOH または，N/10 HCl を所定量加えてよく攪拌し，pH の異なる 13 種の溶液 2 組をつくる。1 時間冷蔵庫内に放置し，その 1 組はそのまま遠心分離，他の組は 95°C の湯センにつけて 10 分間加熱した後冷却して遠心分離し，溶液中に懸濁している蛋白量を定量して凝固蛋白量を計算する。

結果ならびに考察

食塩を含まないすり身

Fig. 2 によれば，生の肉糊の遊離水量は，pH 4.5~5.0 で最大を示し，pH がそれより増大または低下するにつれてだんだん減少する。このような変化は，試料の肉眼的観察結果と一致しており，pH 6.5 以上の試料では認められるほどの水は分離せず，pH 6.3~5.5 の間で分離水が徐々に増加し，さらに pH 5.3 以下になるとひじように多量の水を分離して肉糊の色も白く変化していた。pH 4.2 の試料は分離水は多いが，やや粘稠さが感じられる。曲線 B にみられる pH 4.5~5.0 の保水力の最低域は牛肉での結果[2]と一致しており，蛋白の等電域に関係があるものと考えられる。

これら一連の試料を加熱して測つた遊離水の面積は曲線 (C) に示されるが，加熱前に pH 4.5~5.0 にあつた最高域は pH 5.5 附近に移動し，全体としてその曲線は生のときにくらべ高 pH 側にずれている。

食塩を含むすり身

0.5 M 濃度の NaCl を添加した試料を肉眼的にみると，pH 5.8 以上のものはいずれも全く水を分離していないが，pH 5.5 以下になると水を分離しはじめ pH 4.6 まで pH の低下にともなつて分離水の量が増大する。このような変化は Fig. 3 における A，B 曲線に明瞭に示されており，pH 5.5~5.0 の間で肉糊の保水性に急激な変化が生ずることがわかる。それら両曲線はちようど逆の関係にあり，しかも A 曲線が 0.5 M NaCl に対する肉蛋白の溶出曲線 (Fig. 4) に完全に一致することは，あとに述べるように，蛋白の解膠，溶出が保水力の変化と密接に関連していることを示すものである。

加熱による遊離水曲線のアルカリ側への移動は (C 曲線)，このばあいにもはつきり認められる。

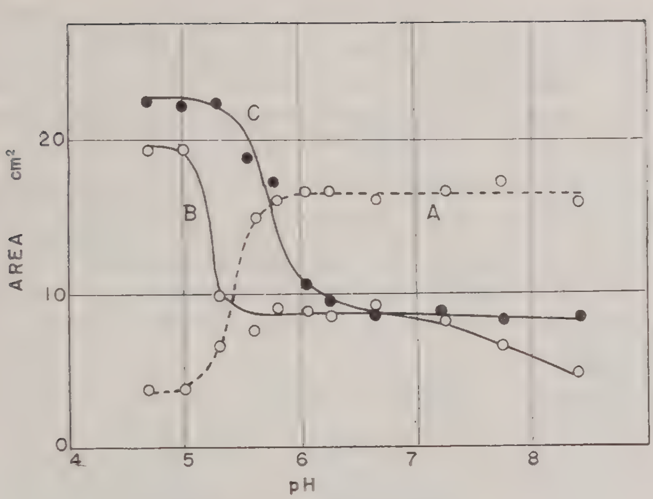


Fig. 3. Effect of pH on the water-holding capacity of 3% NaCl added paste.

Curve A: meat film area in raw paste, Cuave B: watted area (free-water area) pressed out of raw paste, Curve C: wetted area (free-water area) pressed out of heated paste. Meat film area in heated paste was fixed to 5cm².

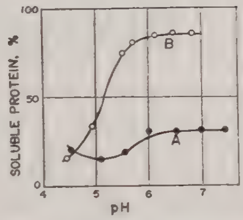


Fig. 4. Effect of pH on the solubility of lizard fish muscle proteins in water (curve A) and 0.5M NaCl (curve B).

生すり身の保水性と蛋白の溶解度

すり身の保水力は，すり身中の蛋白に依存する。双極子イオンである水分子と蛋白との親和性は，蛋白粒子表面の荷電基の静電的引力によつており，したがつて溶媒中の H^+ 濃度の変化によつてひきおこされるイオン性基群の解離状態の変化や，金属イオンの荷電基への吸着などは，水分子と蛋白の親和性にめざましい変化をもたらすであろう。上述の実験結果にみられる生すり身の保水性の pH 依存性は，このような蛋白表面の荷電基の分布と水分子との静電的引力関係によつて説明できる。すなわち，保水力がもつとも低下する pH 域はその溶媒における肉蛋白の等電域に相当しており，そこでは蛋白粒子は最大の total charge と最小の net charge を持つようになるため，隣接 (+), (−) 両イオン性基間の強い静電的結合のために凝集して水を離すようになる。pH が等電域からアルカリ側に移るに従い，(+) 性基の一部は解離を抑えられる結果，粒子間の静電的結合が切れるとともに，その net charge の増加によつて Na^+ や水分子との親和力が増していくと考えられる。

肉蛋白の筋原繊維からの解膠，溶出に対する pH の影響もこれと同様の機作によるのであつて，生すり身の保水性を示す Fig. 2, (A), (B), Fig. 3, (A), (B) 曲線がその肉蛋白の溶解度曲線[3] と密接な関係にあることはこれを示している。

加熱すり身の保水性と蛋白の熱凝固

上述のように，加熱すり身の遊離水曲線が生すり身のそれにくらべてアルカリ側へ移動する事実は，何を意味しているのであろうか。肉糊の保水力の変化が蛋白粒子の荷電基の状態によるのならば，それら荷電基の分布状態は加熱の前後で変化していなければならないであろう。

Fig. 5 はエソ肉蛋白の 0.5M NaCl 抽出液の pH と蛋白熱凝固の関係を示したものである。すなわち，加熱前の溶液

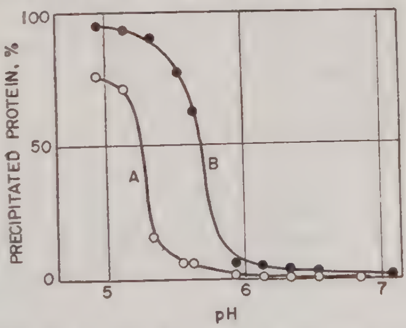


Fig. 5. Effect of pH on aggregation of lizard fish muscle proteins suspended in 0.5M NaCl.

Curve A: before heating, Curve B: after heating (95°C).

では pH が 5.5 以下でなければ蛋白の凝固は起らないが，蛋白を熱変性させるとpH 6.0 近くでも凝固することを示しており，加熱の前後におけるすり身の保水性の変化 (Fig. 3) と全く一致している。これらの結果は，(1) さきに述べたように，蛋白粒子の凝集が起るか，すなわち蛋白粒子のイオン性基群の解離状態がすり身の保水性を左右するということと，(2) 蛋白粒子の静電的性質がその熱変性の前後で顕著に変化するということを示唆するものである。

一般に，蛋白の熱変性はそのペプタイド鎖間の弱い結合が熱エネルギーによつて切れるために，緊密に折りたたまれているペプタイド鎖が解かれることに帰せられているが[4]，鎖の解ける際には多数のイオン性基群が粒子表面に現われるであろう。したがつて粒子表面のイオン性基群の分布状態は，未変性のときとは異つているはずであつて，エソ肉蛋白のばあい，その熱凝固曲線のアルカリ側への移動から考えて，酸性基が抑えられるか，または塩基性基の粒子表面への移動がおこつて，結局，変性蛋白の等電点は未変性の蛋白のそれよりもアルカリ側にずれると考えなければならない。

この推論は，弱酸性を示す魚肉の pH が加熱によつて中性に近づく事実によつても支持されるが，これには WIERBICKI[5]らのいうような加熱の際におこる肉蛋白の激しい金属イオン (Na^+, K^+, Mg^{++}, Ca^{++} 等) の脱着が関係しているであろうし，また蛋白の熱変性の際のイミダゾール基 (pK 5.6～7.0) の動向にも注目すべきであろう。蛋白凝固を起す pH 域とイミダゾールの pK 値の一致は，われわれに強い興味を起させる。

すり身の保水性とかまぼこ形成能

魚肉の塩溶性蛋白の熱凝固と pH との関係が，すり身の保水性と密接な関係にあることは上述のとおりであるが，すり身のかまぼこ形成能[6] にも同じことがいえる。すなわち，すり身の pH 6.5 以上でゲル形成能は最高を示すが，pH の低下に伴つて弱くなり，pH 6.0～5.5 の間で急激な弱化を来たす。したがつて，かまぼこすり身が加熱によつて強いゲルを作るためには，アクトミオシン粒子が熱変性の際に凝集できないような条件下におかれることが必要なのであつて，2～3% の食塩濃度，pH 6.5～7.0 という条件はこの要請をみたしているものに他ならない。しかし，糸状のアクトミオシン粒子が実際にどのような形でゲル化するのか，ただ単に強く水をひきつけたままからみ合つて固定されているにすぎないのか，粒子間に何らかの架橋が生ずるのかということは今後の問題として残される。

要　　　約

1. すり身の保水力は肉蛋白の等電域で最低を示し，すり身の pH の上昇にともなつて増大する。このような保水力の pH 依存性は，蛋白粒子相互間の凝集力と蛋白粒子のイオンならびに水分子に対する親和力との競合によつて説明された。

2. すり身の pH 遊離水曲線ならびに肉蛋白の凝固曲線の加熱前後のずれから，肉蛋白の電気的性質が熱変性のさいに変化することを推論した。

3. すり身のかまぼこ形成能はその保水性と密接な関係にあり，強いゲルの形成にはすり身中でアクトミオシン粒子が加熱のさいに凝固できないような条件下におかれることが必要であると考えた。

文　　　献

1) 志水　寛・藤田功夫・清水　亘: 京大食研報告，No. **21**, 51 (1958).
2) GRAU, R., HAMM, R. and BAUMANN, A.: *Biochem. Z.*, **325**, 1 (1953).
3) SHIMIZU, Y. and SIMIDU, W.: *Mem. Coll. Agr. Kyoto Univ.*, **Fisheries Series**, 68 (1958).
4) HAUROWITZ, F.: *Chemistry and Biology of Proteins, Academic Press*, New York (1950), p. 126.
5) WIERBICKI, E., KUNKLE, L. E. and DEATHERAGE, F. E.: *Food Technol.*, **11**, 69 (1957).
6) 志水　寛・清水　亘: 本誌，**20**, 209 (1954).

抄　　　録

2本の環綱を用いた巾着網　A. N. SAMARYANOV: *World Fishing*. **5** (5), (1956).　巾着網で魚群を完全に包囲するには，網裾を速く締めることと，網口の開口部をなくすることが必要で，このために2本の環綱を用いる方法が考案され，模型でテストされた。主環綱は普通と同じ方法で網口の方向に引張られるが，魚捕部以外のリングは通さず網の両端近くから網船の Cable reel に連結される。補助環綱はこれと反対の方向，魚捕部の方に引張られるが，魚捕部は除き両翼のリングを通して，網とともにターンテーブルの上に積まれる。したがつて主環網と補助環綱は網の両端と魚捕部を除き重り合う。補助環綱の他端は Spring hook と Swivel shackle で魚捕部の浮子綱に固着される。操業は従来の方法で行なわれるが，投網が終了した時の環綱の端の位置は，主環綱は網船にあり，補助環綱は一端は手船にあり，一端は魚捕部の浮子綱にある。手船の環綱の端は Spring hook で連結され，水中に投ぜられる。補助艇は締結の始まる前に魚捕部に近づき，補助環綱を浮子綱からはづし，両船は合図があると反対側に走りながら環綱を締める。網が締まると補助環綱は水中に投ぜられ，補助艇の任務は終る。模型によるテストでは従来の網にくらべ締括時間の短縮，開口部の除去，網裾が均一に締まること，網型が円形に保たれる等の利点が見出された。更に，環綱にかかる張力では，1本の場合（長さ 860 ft，深さ 200 ft の網で締括速度 130〜140 ft/min. の時，0〜800 kg，網の中心では 400〜500 kg）より低い値となるであろう。（井上）

北大西洋における中層引きプランクトンネットの研究　W. ARON: *Limnology and Oceanography*. **4** (4), (1959).　Isaacs-Kidd の中層引きプランクトンネットを改良した網を用い，東北大西洋の水深 20〜250m の水域を 149 回調査した。この網は網口の巾 4 feet 8 1/2 inch，長さ 5 feet 9 inch，全長 20 feet 6 inch，cod-end は長さ 5 feet 7 3/4 inch，網目 1/8 inch で採集管がついており，網口の前に沈降装置がある。6.0ノットで 30 分曳網され，曳網による減速は 1.5 ノットである。採集物は主として大型の動物性プランクトン（euphausiids, pelagic shrimp）であり，網目が 1/8 inch なので体長 2mm 以下の生物は多量に採集できなかつた。調査の結果 1) 日々の洄游，2) 地域的変動，3) 季節的変動等につきつぎのような結論が得られた。1) プランクトンの採集量は夜間は水深とともに減少するが，日中ではその反対である。成魚と幼魚（Larvae）の量および成魚の種類は夜間は水深に伴い減少するが，最も深層（125〜250m）では例外である。2) プランクトンと魚の量および魚の種類はワシントン海岸からの距離の増加に伴い減少するが，Alaska 湾の南では再び増加した。このことは海中の栄養分（燐酸塩等）の量から説明できる。また，北緯 50 度を境にして海洋学的境界があることが明らかにされた。南と北では魚の種類やプランクトンの量の垂直分布が相違し，最も多量に採集された Leucopsarus の水深が50 度の北では 30m，南では 60m であつた。3) 調査の最初（7月20日）と最後（9月9日）において，同時刻（昼，夜）同水深（30, 60, 225m）および比較的近距離の地点で採集されたプランクトンの量に大差がなかつたことにより，季節的変動を重視する必要はなさそうである。このように海洋学的データと生物学的データとの密接な関係は，中層引きプランクトンネットが将来プランクトン生態学の研究に効果的な器具になるであろうことを証明している。（井上）

エビ（Pink shrimp）網の比較試験　M. N. MISTAKIDIS: *Fish. Invest*. **12** (1), (1958).　英国において，1954 年の夏と 1956, '57 年の春から夏にかけてエビ網（ビームトロール）の Cod-end の網目の大きさを種々に変えた比較試験が行なわれた。エビ網は普通ビームの長さが 19〜21 feet（試験用は 12 feet），網は綿糸で 24 feet である。網目は Cod-end で 16, 18, 20 mm とがあり，Bating ではそれより 2 mm 大きく，他の部分（Squre, Wing）ではまた 2 mm 増加する。網は 30, 50, 60 分曳網されるが，30 分曳では 1〜1 1/4 浬，60 分曳では 2〜2 1/4 浬曳網される。漁獲物はフルイでふるわれ大きさが揃えられる。一般に商品になる Pink shrimp *Pandalus montagui* Leach は 10.6 mm 以上の体長（殻長）のものである。3年にわたる試験では，網目を 13〜24 mm に変え，Crouch 河および Clacton 海岸の漁場で 30 分曳，60 分曳で 185 回操業した。それによれば，10.6 mm 以下のエビの漁獲される割合は季節によつて変化し，5〜6 月の間には 10〜50%，当才魚（0〜9 mm）の漁獲される 9〜11 月には 50〜90% に変つた。また，小さい網目は当然 10.6 mm 以下のエビを多く漁獲し，同時に，大きい網目より 10.6 mm 以上のエビも多く漁獲する。最も大きい網目（24mm）をもつた網では 10.6 mm 以下のエビを極く少量留め，フルイにかけても，なお一定量常に残る。21〜23 mm の網でも 10.6 mm 以上のエビを充分とることができるが，これらでは 10.6 mm 以下のエビの留まる割合は，16〜18 mm の網目の場合より少ない。したがつて，若し適正な目合が要求されるなら Cod-end で 22〜23 mm がよく，それ以上小さい網目を Bating や Body に用いることはよくないといえる。

また，漁獲物がデッキに揚げられた場合の生残率はランダムにとつた 50 尾を一定時間空気に曝し，その後水の入つた容器の中に入れ，一定時間後に泳

ぎ始める尾数で表わした。この生残率はエビが空気に曝されている時間が長いと低く，(実験時間 2～23 分)，容器の中での時間 (5～20 分) が長いと高く，また高い気温，水温 (容器中の) では低いことが明らかにされた。なお Pink shrimp に Brown shrimp *Crangon vulgaris* L. が多少混獲され，両者について実験が行なわれたが，30 分曳の場合，Pink shrimp の生残率は 1.5～15% であるのに対し，Brown shrimp では 75～86% の高率であつた。(井上)

温度勾配がある条件のもとでの魚の分布機構の分析 IVLEV, V. S: *Zoologicheskii Zhurnal*, **39** (4), 494～499 (1960). Sullivan (1954) の考えをすすめて，温度勾配のある条件のもとでは，魚の分布が $n(t)=1/k\,[v(t)]$ で示されるものとして，*Salmo slar* および *Cyprinus carpio* の稚魚を用いて，運動速度と温度の関係，ならびに温度勾配のもとでの各温度段階への分布数の実験的決定を行なつた。上式では，$n_{(t)}$ は温度勾配のある時の温度 $t°$ 帯への分布の度合 (総数への%)，$v_{(t)}$ は $t°$ におけるその魚種の魚の運動速度，k は比例常数である。運動速度は，30×40cm の水槽に1尾を収容し，温度を変えつつ，その1分間の移動距離を記録して測る。各温度における $v_{(t)}$ の実測値から，$\frac{1}{k}\sum\frac{1}{v_{(t)}}=100$ として常数 k を求めた。その値は *Salmo* で 0.00054, *Cyprinus* で 0.0020 となつた。この $1/k$ をそれぞれの $v_{(t)}$ にかけて各温度帯への魚の分布 % を求めた。こうして計算した分布 % を，上述の実測した分布 % と対比したところ，きわめてよい一致が得られた。この結果から，温度勾配のある場合の各温度帯への魚の分布は，運動速度の最小となる温度帯で最も多く，それより高い，あるいは低い温度では，運動速度が増加し，それと反比例して，分布割合が減少することがわかる。(児玉)

刺網の選択状性の質的な側面 G. B. NIKOLSKII and T. N. BELJANINA: *Izvestija AN, Serija Biologicheskaja* (USSR), **6**, 889～897 (1959),

刺網は漁獲物の魚体の大きさを制限するが，それだけでなく，肥満度に対しても選択性を示す。一方肥満度は，魚体の抱卵数と結びついているので，結局，刺網漁業は対象魚種の個体群の再生産能力に対して，一定の様式で影響を与えていることになる。網目が，個体群の体型組成のモードに当る体型を獲るのに適当なように選ばれると，こういう網による漁獲物では，個体群のモードに当る体型のものの肥満度は偏らないが漁獲物中の小型魚の肥満度は高い方に，大型魚のそれは低い方に偏る。一方網目がこれより小さいと，漁獲魚の肥満度は，個体群の中の相当する体長の個体の肥満度より小さくなり，逆に網目が大きすぎると，個体群の中の相当する体長の個体に比べて肥満度が大きくなる。かくして，刺網以外の漁法を用いてできるだけ無作為的にとられた漁獲物と，刺網の漁獲物の間で，体長階級ごとに肥満度を比較することによつて，刺網の網目の適当さについて判断することができる。(児玉)

英国の海洋漁業における漁獲努力について J.A. GULLAND: *Fish. Inves.* **II** (20) (1956). 魚群量の計算の際，漁獲努力は最も重要な要素であり，漁獲努力では船毎の漁獲性能 (fishing power) の違いは基準船のそれに換算する必要がある。本研究では英国の約500隻のトロール船と十数隻の旋網船について漁獲性能を調査した。ここでは，i 船の j 漁場，漁期の漁獲性能は次式で計算された。$Y_{ij}=P_i\times t_{ij}\times D_j\times\alpha_j\times\varepsilon_{ij}$; Y_{ij}＝漁獲量，P_i＝漁獲性能，t_{ij}＝漁業に費やした時間，D_j＝魚群の密度，α_j＝自然減耗率，ε_{ij}＝変数。結果; 150 トン以上の中大型スチームトロール船では漁獲性能はトン数に比例的である。150 トン以下 (殆んどが 95～110 トンで drifter トロールである) の小型トロール船ではトン数との関係は明瞭ではないが，中，大型船にくらべ，トン当りの漁獲性能は 1.3 倍ぐらいである。モータートロールでは漁獲性能はトン数に関係するが，小型船のトン当り漁獲性能は大型船よりも大きい。また，中，大型スチームトロール船にくらベトン当り 1.4 倍であつた。トロール船の漁獲性能はまた，船の長さ，網の重量，馬力に密接に関係し，これらの要素は相互に密接な関係にある。漁獲性能とトン数，馬力との相関々係を求めると，モータートロール船では軸馬力は性能にやや大きく関係し，スチームトロール船では公称馬力はトン数より影響度は小さい。漁獲性能の判定を標準化するため「換算トン数」が考えられた。これは 150 トン以上の中，大型スチームトロール船の時間当りの漁獲性能を基準にとつたもので，中，大型スチームトロール船では総トン数は換算トン数に等しいが，小型トロール船では換算トン数は総トン数の 1.3 倍，モータートロール船では 1.4 倍となる。旋網の漁獲性能は 20～80 トンクラスでは船の大きさに無関係である。また旋網 (1そうまき) の換算トン数はスチームトロール船の 250 トンに相当し，2そうまきでは 320 トンに相当する。しかし，旋網の年当り漁獲量は稼動時間が少ないので減少している。Performance すなわち時間当り漁獲量は漁獲性能に最も近い指数として利用価値が高い。出漁日数や作業時間は漁期の測定の尺度として論議されたが，前者はトロールのような漁業では不確実なことが分かつた。(井上)

漁獲能率の測定およびそれと漁船の特性との関係 B. B. PARRISH and R. S. KEIR: *ICNAF, Annual Proceedings*, **9**, 106～112 (1959). 資源量の推定と漁業の管理のためには単位操業当りの漁獲量が必要となる。これが漁獲能率と関連する。海の中の資源の絶対量が何らかの方法で直接測定し得るものなら漁獲努力の適当な単位も容易にわかるし，絶対的な漁獲能率もわかる (漁獲努力の測度は漁獲能率と時間の積であるから)。しかしそれが殆んど

不可能であるので，漁獲死亡率に結びつく漁獲努力と相対的な漁獲能率を考える。すなわち相対的な漁獲能率は，同一時期に同一漁場で同一魚種を対象として操業した場合の各種漁具漁法の単位操業当りの漁獲量の比でもつてあらわされる。しかし実際にはこのような外的条件を満たすことは少なく，漁場は異り魚種は入りまぢつていることが多いので分析には種々の困難があり，この点将来の研究問題として残される面も多い。

漁獲能率を支配する要因としては，(1) 漁船の特性，(2) 漁具の特性，(3) 乗組員の特性（員数，操業の技術等）である。漁船の特性のうち最も著しい要因は船の大きさと推進力である。

イギリスとドイツの北海の底魚トロール漁船については，スチームエンジンの漁船もディーゼルエンジンの漁船もトン数の大きさと漁獲能率とは比例する。しかしその比例係数は後者の方が大きいので，スチーム漁船とディーゼル漁船との漁獲能率の比は 1: 1.4 である。

その他アイスランド（底魚トロール），オランダ（ニシントロール，底魚トロール），日本（サンマ刺網），スコットランド（巾着網）等の研究成果の紹介がなされている。（土井）

魚類個体群の成熟過程の適応的関係 Yu. E. Lapin and Yu. G. Yurovitskii: *Jurnaly Obschei Biologii*, **20** (6), 436～446 (1959). 水体の餌料環境が良い時は，成熟体型に早く達し，全体としての繁殖率が高まり，一方餌料環境が悪い時は，この逆の過程によつて繁殖率が低下するというのが，Vasnetsov (1947) の示した考えであるが，実際には必ずしもそうならないという意見も多い。しかしある水体における，ある種の全体について抽象的に平均的に考えることをしないで，種内の個体群ごとに扱つてみると，やはり Vasnetsov の上述した考えがあてはまることがわかる。すなわち，淡水および海産の数種の魚で分析した結果，水体の餌料不足には，ある限界的な度合があり，不足がこの限界までおよばぬ時は，個体群の個体数および全重量は減少しても，個体の抱卵数，成熟年令等は変化しないことが判つた。そして，この限度をこえて餌料環境が悪化すると，成長の遅滞，個体の小型化，が起る外，成熟が反つて早められること等が起るようである。こういう現象が起るのは，それぞれの種に，個体群としての生存可能な最小限の個体群密度というものが存在するものであると考える。（児玉）

大西洋ニシンにおける主な血液型法について C. J. Sindermann, D.F. Mairs: *Copeia*, **3**, 228～232 (1959). 最近血清学的方法による海産魚類の系統についての研究が注目されてきた。この報告では Gulf of Maine の未成熟ニシンの stocks が同一の群から成り立つているものか，あるいは独立した幾つかの群から成り立つているものかという問題について血清学的な方法を用いて検討したものである。

1957～58 年の夏と秋に約 1,800 尾の 1～2 年魚から採血し，その凝集反応を観察した。反応を測定するために用いられた血清は，正常 Lobster (*Homarus americanus*) 血清と家兎抗ニシン血清である。その結果「抗原C」と呼ばれる血球抗原が発見された。そこでこの出現頻度を地域的に比較してみると Mount Desert 島を境にして東部のニシンには 97.7% 出現し，西部のものは 77.0% にすぎなかつた。この結果を χ^2 検定してみると両地域間に有意な差が認められた。このことから両地域の魚群はそれぞれ独立した stock のものと考えられ，さらにその由来は異なる産卵群であると推定することができた。しかしこれらの血清学的方法を用いての資源学的研究はさらに慎重に検討されねばならない多くの問題を有している。（服部）

次亜塩素酸による油脂の不飽和度測定 R. B. R. Choudhury: *J. Am. Oil. Chemists' Soc.*, **37** (4), 198～199 (1960). これまでに提出された表記の方法では HClO 試薬の調製が比較的困難であることから，市販の漂白剤を使用することを検討した結果，Clorox のような漂白剤は，酢酸酸性で HClO を遊離し，それが定量的に二重結合に付加することを認めた。漂白剤に含まれる他物質は，この反応をさまたげない。Wijs 法より簡単であるから実用分析に適当である。非共軛不飽和結合を含む油脂（共軛不飽和結合を含む油脂）について提出された方法はつぎの通りである。試料 0.1～0.2g を 500 ml 共栓三角フラスコにとり氷酢酸 (2.5% 酢酸第二水銀-酢酸溶液) 10 ml を加え，よく振とうし 0.1 N(3N) Clorox 25 ml を加え，さらによく振とうする。10 min. (1 hr.) 室温（約 20°C）に保ち，15% KI 20 ml を加え，1 min. 後 1% デンプン指示薬を用い，0.1 N-$Na_2S_2O_3$ で滴定する。白験を併行して行ない次式により計算すればよい。I. V. = (ml blank − ml sample) × 0.127 × N($Na_2S_2O_3$) / wt. of sample.（外山）

油脂中の遊離脂肪酸の定量 I. Hornstein, J.A. Alford, L. E. Elliott, and P. F. Crowe: *Anal. Chem.*, **32** (4), 540～542 (1960). 不鹸化油脂中の遊離脂肪酸を分離定量する方法として，脂肪酸を強塩基性アニオン交換樹脂 Amberlite IRA-400 に吸着させ，これを溶出させることなく樹脂上で脂肪酸をメタノール塩酸で脂肪酸メチルエステルにし，定量的に石油エーテル抽出を行なつてこれをつぎの気体-液体分配クロマトグラフ法によるガスクロマトグラフィーにかけて各脂肪酸に分離し定性定量を行なつた。測定条件は，カラム：径 1/4 インチ，長さ 8 フィートの螺旋型，固定相：poly (vinyl acetate) (PVA)，キャリヤーガス：He，流速：80～85 ml/min.，温度：205°C で行ない，試料 5 μl を採つてカラムに注入する。溶出順序はC数の少ないものから先きに出る。各脂肪酸メチルエステルの定性は純粋物質による同定により確認でき，定量は内

部標準法により，n-heptadecanoic acid を内部標準物質として行なつた。その結果，ラウリン酸，ミリスチン酸，パルミチン酸，ステアリン酸，オレイン酸，リノール酸およびリノレイン酸が分析所要時間ほぼ 45 min. で 60〜95% の収率で分離定量できた。(平野(敏))

ガスクロマト法と紫外部分光法とによる油脂分析 S.F. HERB, P. MAGIDMAN, and R.M. RIEMENSCHNEIDER: *J. Am. Oil. Chemists' Soc.*, **37**, 127〜129 (1960). 現在ではガスクロマト法 (GLC) で用いる検知器には 10^{-9}g の試料を検出し得るような精度の高いものがある。高級脂肪酸エステルの分離に最も良い固定液相である succinate polyester of diethylene glycol にはこのような検知器は感度が高すぎるので，10^{-6}g を検出する普通の熱伝導度検知器を用いた。試料としては既知メチルエステルの混合物，豚脂エステルおよびゴマ油エステルを用い，8 ft, 1/4 in. (径) のカラムでヘリウムを 75 ml/分流して，235°C で分析を行なつた。クロマトグラムは明瞭なそして相称的なピークを示し，構成脂肪酸はほぼ完全に分離された。この場合不飽和エステルの t_R は飽和エステルのそれより長く，不飽和物では二重結合が多いもの程 t_R は長かつた。ピークの面積から等出した組成 % は実測値およびアルカリ異性化分光分析法によつて得た値とよく一致したが，t_R の短い飽和エステルでは僅かではあるが値が高く，t_R の長い不飽和エステルでは値が低い傾向があつた。豚脂中の arachidonate と pentaenoate とはアルカリ異性化分光分析法ではそれぞれ 0.3，0.2% という小さな値を示したが，GLC では検出されなかつた。このことからアルカリ異性化分光分析法が優れているともいえるが，アルカリ異性化分光分析法では同じ数の二重結合をもつているものは炭素数が異なつても別々に分析されないが GLC ではこれが可能であるから一概に優劣を決められない。(豊水)

包装材料に添加した酸化防止剤の効果 E.F. CALDWELL and S. SHMIGELSKY: *Modern Packaging*. **32** (5), 111〜113 (1959). 包装材料に含まれる微量の金属のために，食品から滲みでた油脂が，いちじるしく酸化することが知られている。これを防ぐには，包装材料の表面に被膜を作つたり，入れ子を用いていたが，最近では酸化防止剤処理によりラードとか菓子類でよい結果がえられることが判つたので，油脂含有量の比較的少ない乾燥穀粉(小麦，トウモロコシ，米) の場合について検討した。酸化防止剤処理は紙函の内面に，その重量に対して BHA が 0.05% になるように噴霧した。この函に穀粉を入れ，さらに 300 MST セロファンで包装したものを貯蔵し，その変化をパネル法によつて aroms, flavor および全般について検討した。結果は，全般的に対照に比べ良好であり，常温貯蔵においては 52 週後の評価で，明らかにその効果がみとめられた。100°F の加熱貯蔵では 18 週後にはその効果が明らかであつたが 52 週後には，ほとんどその差が認められなくなつた。(外山)

天然油脂中のトコフェロールの酸化 E. N. FRANKEL, C. D. EVANS, and P. M. COONEY: *J. Agr. Food Chem.*, **7** (6), 438〜441 (1959). ワルブルグ検圧計 (60°C) と AOM (100°C) を用い，試料の POV とトコフェロールの変化を測定することによつて，ラードに添加したトコフェロールの酸化による減少を植物油に含まれる天然のトコフェロールのそれと比較検討し，酸化速度の動力学および金属汚染物の影響を研究した。酸化によるトコフェロールのいちじるしい減少は，微量金属の汚染によるとし，大豆油の安定性を 60°C で試験した結果 (hrs.) は原油 (16)，+0.01% クエン酸 (105)，+0.3 p.p.m. Fe^{+++} (4)，+0.3 p.p.m. Fe^{+++} +0.01% クエン酸 (100) であり，クエン酸の酸化防止効力が，金属汚染物の不活性化作用であることを認めた。さらに，不飽和度の異なる油脂を用い，トコフェロール減少の初速度と不飽和度との関係，パーオキサイドとトコフェロールのそれぞれの誘導期間，金属汚染物の影響等について検討を加え，自働酸化過程における油脂中のトコフェロール減少を支配する因子として，トコフェロールと油脂ヒドロパーオキサイド間の反応を支持する結果を得，油脂のヒドロパーオキサイドの安定性が，これに大きく影響することを掲示したほか，カーボンブラック処理により大豆油からトコフェロールの一部を除くと，かえつて安定化することを認めた。(外山)

乾燥食品中の油脂の酸化に関するモデル実験 S. J. BISHOV, A. S. HENICK, and R. B. KOCH: *Food Res.*, **25** (2), 174〜182 (1960). 新鮮な食品中には，天然の酸化防止剤のほかにヘモグロビンのような酸化促進作用を有するものが含まれている。乾燥食品の貯蔵中におけるこれらの影響を検討するために，CMC を水に分散させ，試験目的に応じて Fe 化合物，リン脂質，大豆油，大豆タンパク質を順次適当に加え，水を加えて固形量 15% のエマルジョンとなし，凍結乾燥したものを粉砕したのち，高温通気法により貯蔵試験を行なつた。その結果，油脂の乾燥重量に対してリン脂質を 0.5〜5.0% 加えると，酸化を防ぐこと，タンパク質は効果があるがリン脂質を配合すると，さらにつよい効果を示すこと，ヘモグロビンの触媒作用はいちじるしく 85°C 数分間の貯蔵で酸化がおこること，ポルフィリン化合物を含むエマルジョンは，乾燥したものの方が急速な酸化を示すこと，クエン酸鉄はポルフィリン化合物より酸化促進効果がおとること，リン脂質は単独またはタンパク質との配合で乾燥エマルジョンにすぐれた酸化防止効力を示すが，BHT，NDGA のようなフェノール系酸化防止剤は効果が低いことを認め，リン脂質が油脂の酸敗による食品の劣化に有効であることを認めた。(外山)

雑　　録

○ 6月理事会

1. 開催日　昭和 35 年 6 月 24 日

2. 場　所　東京水産大学会議室

3. 出席者　田内会長，外 19 名

4. 報　告

a. 渉外担当庶務理事 1 名の補充を水大三浦昭雄氏とする。

b. 海洋学特別委員会委員に本会より熊凝武晴氏，栗田晋氏を推薦した。

c. 文部省の研究成果刊行費補助金が本年度 21 万円と決定した。

d. 記念号の応募論文 46 篇の内 31 篇を掲載することに編集会議で決まつた。

5. 議　題

a. 農学会運営委員よりブラジル派遣員候補者推挙について連絡があつたので取急ぎ要旨を6月号発行の会誌に公告し8月 20 日に学会宛応募を打切り8月末役員会で推薦候補者を決定することとした。
6部関係で研究技術白書を発行することとなつたので8月役員会までに委員がこの件で資料を集めて報告することとした。

b. 副編集長より編集会議で理事会の構成員について種々意見が出たことにつき，説明があつたが，更に編集会議で意見を伺い次回に相談することとした。

6. 交換図書の件

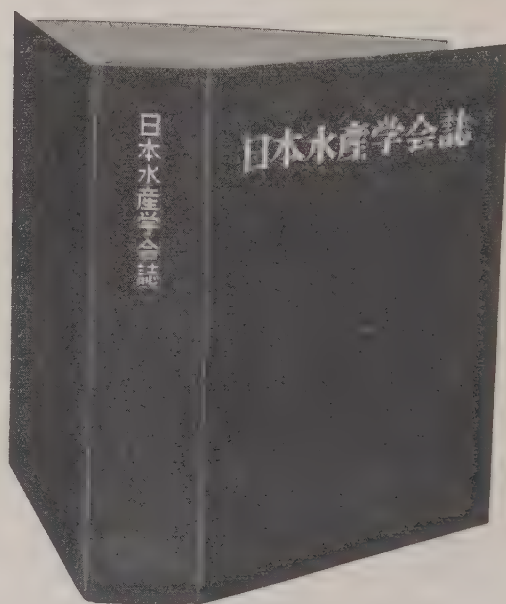
1. Galveston (Texas) の Bureau of Commercial Fisheries より文献交換の申込みがあつたが，これは断わることにした。
2. アメリカ海軍水路部より同じ申込みがあり，これは先方の交換図書のリストを検討することにした。

正　誤　表

Vol. 26, No. 5　p. 527, 24 行目

(誤)	(正)
農学会運営委員　新崎　盛敏	農学会運営委員（ 〃 ）新崎　盛敏

会誌 論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知



水産学会誌1年分を簡単に製本出来る。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあけず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価 厚さ 4.5 cm	¥ 120
〃 6.0 cm	¥ 130
〒	¥ 20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

○学会所定原稿用紙価格 送料共　金 100 円

昭和三十五年七月二十日 印刷
昭和三十五年七月二十五日 発行

第二十六巻 第七号

本号定価 180 円
(送料別)

編集兼発行者 大島泰雄
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発行所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529番
電話 (451) 2200番

印刷者 笠井康頼

印刷所 株式会社 国際文献印刷社

発売所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (341) 7446

カツオ幽門垂中の未知因子に関する研究—I.
CF と置きかえ得る未知因子の発見

柿 本 大 壱

(1960 年 4 月 8 日受理)

STUDIES ON AN UNKNOWN FACTOR IN THE PYLORIC COECA OF SKIPJACK—I.
DISCOVERY OF AN UNKNOWN FACTOR AS A SUBSTITUTE FOR THE CITROVORUM FACTOR

Daiichi KAKIMOTO*

Amount of CF, citrovorum factor, in pyloric coeca of skipjack was determined by bioassay with *Leuconostoc citrovorum* as 5.9γ per one gram of this tissue. However, the presence of a substance which favors the growth of this bacteria but behaves at variance with the known CF was also disclosed as mentioned below, suggesting the share of this unfamiliar substance, "unknown factor" so to speak, in the above value of total CF.

In the incubation of pyloric coeca of skipjack or aqueous extracts thereof, maximum liberations of citrovorum factor, including the unknown factor, took place when conjugase obtained from chick pancreas was employed or when this tissue was subjected to autolysis at pH 4.5, while the conjugase from hog kidney and also takadiastase were found less effective, simultaneous use of cysteine or ascorbic acid known as activator of conjugase having no effect on the liberation of CF from conjugated state (see Table 1).

The unknown factor was proved by the bioautographic method to be completely separable from the known CF (see Fig. 1).

As regards the promotive effect on the growth of *Leuc. citrovorum*, while the known CF is readily damaged when acidified to pH 2.0, the unknown factor can survive such acidification (See Figs. 2 and 3).

SAUBERLICH, BAUMANN[1] は悪性貧血症に有効な肝臓製品中に *Leuconostoc citrovorum* の発育を特別に促進する物質が存在し，それが葉酸の誘導体であると報告した。その他これに類似の研究は甚だ多く，その中 SHIVE ら[2] および BROCKMAN ら[3] は 5-formyl-5, 6, 7, 8-tetrahydropteroyl-L-glutamic acid を合成し，この物質が *Leuc. citrovorum* に対し肝臓から抽出した物質と同じような発育促進効果を示すことを認めている。一方天然物からは馬の肝臓を材料に用い，*Leuc. citravorum* の発育因子をバリウム塩として分離することに成功し，さらにまたこの塩の示す活性が前記合成品の倍にも達することを明らかにした KERESZTESY ら[4] の業績がある。以上のごとく *Leuc. citrovorum* の発育を促進する物質は概ね葉酸の類似物質であることは明確であり，該因子は主としてプテリン類が関与している酵素系の研究で知られている。微生物が必須代謝物として要求する因子で *Leuc. citrovorum* に直接関係ある物質は Citrovorum factor (CF), あるいは Folinic acid (フォリン酸) 等と呼んでいる。勝沼氏が執筆した著書[5] によれば従来研究者によつてこの因子を記載する方法がまちまちであり，統一の要があるというが，著者も全くこの意見に賛意を表したい。よつて同氏の提唱するごとく本報告以後は *Leuc. citrovorum* の発育促進因子を CF と記載

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ.)

することにした。かつて本誌[6),7)]を通じ報告済みのものには Folinic acid としてあるが，これはここでいう CF と同様な測定法で得たものに他ならない。また本報告ではカツオ幽門垂中にフォリン酸以外の物質で *Leuc. citrovorum* の発育促進効果を与える未知因子が存在することを報告するが，この物質はさらに研究をおしすすめてから適当な名称をつけたいと思つている。

I. 幽門垂中の CF 遊離法並びに CF 含有量

CF の定量法は，すでに著者ら[7),8)]が本誌に海藻並びにコイにおけるフォリン酸含量について行なつた報告中に記載したのと同じように *Leuc. citrovorum* を用いる Bioassay によつた。幽門垂中の CF が結合型で存在しているか否かを，また結合型であるとすればその遊離法を知る必要がある。遊離法についても著者らが幾つかの方法を報告しているが，幽門垂の場合もそれにしたがつた。すなわち Conjugase として Hog kidney，Chick pancreas から調製したものの他，Takadiastase，幽門垂の自己融解による効果，さらに Conjugase 作用の activator として知られている Cysteine や Ascorbic acid の効果なども検べた。

Table 1 はカツオ幽門垂中の Conjugase 活性度と CF 含有量を示したものである。すなわちカツオ幽門垂は熱水抽出または冷水抽出でほとんど大部分の CF が細胞外に抽出されることは，新鮮幽門垂に Conjugase を作用させたものが，これらエキスに Conjugase を作用させたものと全く同一の CF 量を示すことから明らかである。さらにまた幽門垂中の CF は大部分結合型であり，これを分離させるには Hog kidney, Chick pancreas から調製した Conjugase によるのが普通であるが，カツオ幽門垂の場合には Chick pancreas conjugase の活性度が Hog kidney conjugase に比較し著しく高く，Chick pancreas conjugase

Table 1. Amounts of CF set free by various treatments from pyloric coeca of skipjack.

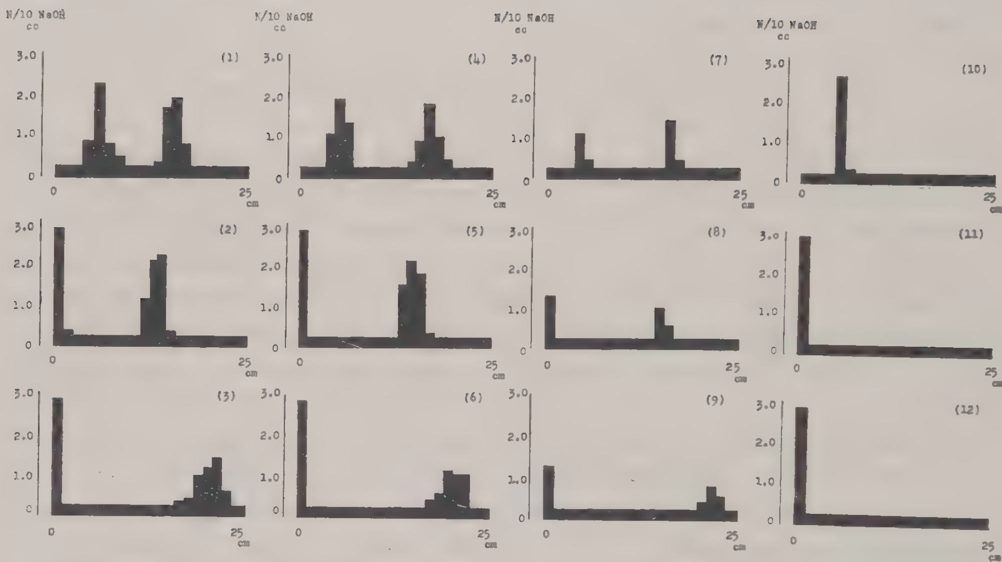
Treatment of pyloric coeca	CF γ/g*	Relative activity of conjugase
Extracted with water	0.250	—
Extracted by boiling	0.250	—
Hog kidney and chick pancreas conjugase prepared by the author.	0	—
Takadiastase	0	—
Fresh pyloric coeca was incubated with hog kidney, chick pancreas conjugase and cysteine	**5.850**	**100**
Boiled extract was incubated with chick pancreas conjugase for 24 hrs at 37°C.	5.880	101
Boiled extract was incubated with hog kidney conjugase for 24 hrs at 37°C.	1.596	27
Boiled extract plus cysteine	0.250	4
Boiled extract was incubated with chick pancreas conjugase and cysteine for 24 hrs at 37°C.	5.900	101
Boiled extract was incubated with hog kidney conjugase and cysteine	0.280	5
Bioled extract was incubated with hog kidney, chick pancreas conjugase and cysteine.	5.850	100
Boiled extract was incubated with hog kidney, chick pancreas conjugase and ascorbic acid.	5.850	100
Boiled extract was incubated with Takadiastase	0.994	17
Pyloric coeca was subjected to autolysis at pH 9.0	0.280	5
〃 at pH 6.8	0.250	4
〃 at pH 4.5	5.880	101

* CF contents in the conjugase preparations from hog kidney and chick pancreas and takadiastase were all zero.

のみで充分に結合型から遊離することができる。HILL[9] らは CF を組織から Conjugase によつて遊離する際 cysteine が activator の役割を果すと報告しているが，基質がカツオ幽門垂の場合には何らその効果が認められなかつた。またその他の還元剤で Conjugase 活性を促進するものとしてアスコルビン酸[10] が知られているが，著者の実験からは，その効果を認めることができなかつた。 また Hog kidney の効果がほとんどあらわれないことは著者らが海藻並びにコイの組織について行なつた実験結果と著しい差異がある。幽門垂を自己融解のみで消化すると，pH によつて活性度に大きな差異があらわれる。4.5 の pH で自己融解すると，ほぼ Chick pancreas conjugase と Cysteine によつて遊離した結果とほとんど変らない。また，Takadiastase がある程度の活性を示すが， Chick pancreas conjugase と同じ酵素系によるものか否かは不明である。以上のごとくカツオ幽門垂では CF の遊離は一般に動物組織でみられる場合と異り，この組織は Conjugase に対し独特の選択性を有している。さらにこの組織そのものが高い Conjugase 作用を持つていることを知つた。幽門垂中の CF 含有量をみると 5.8γ/g であつてコイの各組織，器官中のそれに比べ遙かに高いことがわかる。SILVERMAN[11] らの研究によると自然界に Labile citrovorum factor と称する甚だ不安定な物質が存在する。しかし，この物質は室温に放置しただけで容易に失活すると報告されているので，著者の測定した幽門垂中の CF 含量には勿論前処理等を考え併せても以上のごとき物質は少なくとも重要部分としては含まれていないと判断される。

II. 幽門垂 CF の Bioautography

前項の実験結果によればカツオ幽門垂にかなり多量の CF が含まれていることになる。本項では前項の実験をさらに細部にわたつて検討するために幽門垂成分の Bioautography を行つた結果について論じる。試料は前項の実験で示したようにカツオ幽門垂を pH 4.5 で自己融解したものをはじめ，Chick pancreas conjugase と Cysteine で CF を遊離せしめたものおよび Takadiastase で CF を遊離せしめたもの，また別に CF を同定するために Lederle 製の CF（ロイコボリン）を溶解したものを用いた。Bioautography に用いた展開剤は 1) エタノール，ブタノール，アンモニア，水 (5: 1.5: 1: 2.5)，2) ブタノール水飽和溶液（稀塩酸で pH を 4.5 に調製した)，および 3) コリヂン水飽和溶液の三種類であり，沪紙クロマトは東洋沪紙 No. 50 を用い，原点には前記の試料を置き展開距離 25 cm の一次元法によつた。沪紙は展開後約 60°C で扇風機の通風下で完全に乾燥し，原点より 0.5 cm の位置から展開末端までを順次 1.5 cm 幅に切りとり温水で抽出した。抽出は 5 cc の温水によつたが，被検液はその 1 cc について行ない同容の基礎培地を加え 2 cc 中に接種菌を移植した。72時間後に生産された酸を常法により N/10 苛性ソーダで滴定した結果は **Fig. 1** に示した Histogram のごとくである。これによると自己融解によるものと Takadiastase 消化並びに Chick pancreas によるものとは全く同型の Histogram であり，消化法による相違は認められず，Takadiastase 法では活性物質の遊離が低い。Lederle の CF は何れの展開剤を使用しても原点から近い部分に1ケ所の活性があらわれ，幽門垂消化液では CF に比べて遙かに遠距離にも活性部があらわれる。エタノール系展開剤では原点から 3.5 cm と 7.5 cm との間に1ケ所，15.5 cm と 19.5 cm の間に1ケ所の活性部があらわれる。ブタノール系では原点附近および 13.5 cm 附近の2ケ所に活性部が認められる。コリヂン系展開剤では原点の他に 17.5 cm から展開末端にわたり活性部が認められる。CF は何れの展開剤でも展開距離の短かい部分と全く一致することから考えて，幽門垂エキス中の *Leuc. citrovorum* の発育促進物質は CF 以外のある成分を含有していることが明らかである。一方 BROQUIST[12] らによれば CF は稀酸溶液中（pH 2.0 以下）では 25°C においても約 30 時間放置すれば *Leuc. citrovorum* の発育促進効果を失うとされている。カツオ幽門垂中に含まれている *Leuc. citrovorum* 発育促進効果は前述のごとく2つの互いに異なる物質によつて示され得るが，一方著者の *Leuc. citrovorum* 発育促進物質が酸によつてその活性を喪失することが既知 CF と同様であるか否かを知る必要がある。



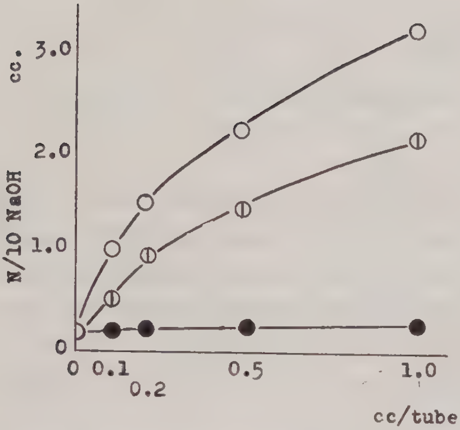
Horizontal scale, distance covered by the components developed.
Vertical scale, amount of 0.1 N NaOH corresponding to the acid produced.
Bioautographic experiments from (1) to (9) were carried out with pyloric coeca, and the others from (10) to (12) with CF.
Digestive methods of pyloric coeca and developing agents were as follows:

(1) Digestive method, autolysis at pH 4.5. Developing agent, ethyl alcohol: butyl alcohol: ammonia: water (5: 1.5 : 1: 2.5).
(2) Digestive method, the same as in (1). Developing agent, butyl alcohol saturated with water (pH 4.5).
(3) Digestive method, the same as in (1). Developing agent, collidine saturated with water.
(4) Digestive method, chick pancreas conjugase digestion. Developing agent, the same as in (1).
(5) Digestive method, the same as in (4). Developing agent, the same as in (2).
(6) Digestive method, the same as in (4). Developing agent, the same as in (3).
(7) Digestive method, Takadiastase digestion. Developing agent, the same as in (1).
(8) Digestive method, the same as in (7). Developing agent, the same as in (2).
(9) Digestive method, the same as in (7). Developing agent, the same as in (3).
(10) Without digestion. Developing agent, the same as in (1).
(11) Without digestion. Developing agent, the same as in (2).
(12) Without digestion. Developing agent, the same as in (3).

Fig. 1. Bioautographies of CF and unknown factor in the pyloric coeca. (*Leuc. citrovorum* used)

III. 幽門垂中の CF の pH 2.0 における活性

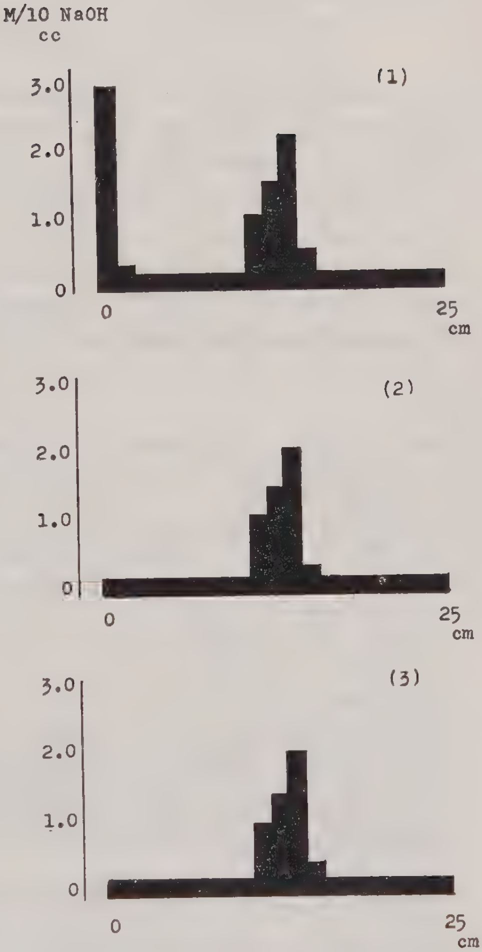
自己融解した幽門垂 2gm をホモヂナイズし，その 1gm を M/10 燐酸塩緩衝液で pH 2.0，また他の 1gm は pH 6.8 に調整して，いずれも 25°C で 30 時間宛放置した後，前者は pH 6.8 に調製し，後者はそのままに水を加え，両者とも 100cc に満し，そのうち 0.1, 0.2, 0.5, 1.0cc について *Leuc. citrovorum* の発育促進効果をしらべた。CF の酸に対する安定度を実証するために Lederle 製 CF (0.5mγ/cc) を前述のごとく pH 2.0, 25°C, 30 時間放置したものについても同様に試験した。その成績は **Fig. 2** の通りで



-○- Intact pyloric coeca
-⦶- The pyloric coeca adjusted in pH to 2.0 and kept for 24 hrs. at 37°C.
-●- CF kept under the above mentioned conditions.

Fig. 2. Responses of *Leuc. citrovorum* to homogenized sample of pyloric coeca.

ある。図で明らかなように BROQUIST らの指摘する結果と一致して，pH 2.0 では *Leuc. citrovorum* の発育促進効果は CF の場合には完全に失われる。これに対しカツオ幽門垂では同様な処理法にも拘わらず依然 *Leuc. citrovorum* の発育が認められる。この事は前項で述べた Bioautography による CF 以外の因子によるものとは直ぐには判断しかねるが，尠なくとも CF のみの場合とは明瞭な相違を認めさせる。幽門垂中の *Leuc. citrovorum* 発育因子が尠なくとも二種類存在し，しかもそれらの性質中 pH 2.0 によつて示される特異性については従来の CF と異なる物質によるものであるということが予想されるが，さらにつぎの実験でそれを証明することができた。即ち前に述べたと同じく幽門垂を 25°C で 24 時間自己融解 (pH 6.4) したものと同量の幽門垂を pH 2.0 に調製してから 15 ポンド 10 分間加熱したものおよび同一 pH で 24 時間室温で放置したものから得たエキス中の CF 並びに他の因子を比較するため Bioautography を行つた結果



Horizontal scale, distance covered by the components developed.
Vertical scale, amount of 0.1 N NaOH corresponding to the acid produced.
Preparations of sample are as follows:
(1) None treated pyloric coeca.
(2) After adjusting the pH of pyloric coeca to 2.0, autoclaved under 15 lbs for 10 minutes.
(3) After adjusting the pH of pyloric coeca to 2.0, kept at 30°C for 24 hrs.

Fig. 3. Bioautographic illustrations of the stability of the unknown factor against acid.

Fig. 3 の成績を得た。図で示したように pH 2.0 で室温に 24 時間放置したものと，15 ポンド 15 分間加圧加熱したものとではいずれも CF の活性は完全に失われるが，他方の因子の活性は明らかに維持されている。pH 6.4 の自己融解によるエキスでは CF 活性が顕著であるとともに他の因子による活性は pH 2.0 で処理したものと変りがない。以上の実験結果からカツオ幽門垂中には既知 CF 以外に *Leuc. citrovorum* の発育を促進させる他の物質が存在することが明らかになつた。CF との根本的な相違並びにその性質につ

いてはさらに次報において検討することにした。

要　　約

1. カツオ幽門垂中の CF 含量は *Leuc. citrovorum* による Bioassay では 5.8γ/g と定量されたが，幽門垂中には CF 以外に *Leuc. citrovorum* の発育促進効果を示す他の物質が存在することを知つたので，上記の値にはこの未知物質の影響も含まれているものと判断される。

2. カツオ幽門垂は一般に知られている CF Conjugase によつて消化する場合に Hog kidney から調製したものは Chick pancreas からのそれに比較して Conjugase 活性が著しく劣り，また幽門垂を Conjugase で消化する場合 Cysteine や Ascorbic acid の効果が認められない。この器官に存在する CF の大部分 (95%) は結合型であるが pH 4.5 で自己融解すると一昼夜で Chick pancreas conjugase とほぼ等しい程度の遊離化が認められる (Table 1)。

3. カツオ幽門垂中の CF および他の活性因子は Bioautography 法によつて分離することができる (Fig. 1 参照)。

4. CF は pH 2.0 で容易に生物活性を失うにも拘わらず今一つの異なる因子はこの条件では全く生物活性を失うには至らない。尠なくとも CF に比べて耐酸性の因子である (Figs. 2, 3 参照)。

本研究に御教示を賜わつた北大農学部中村幸彦教授，鹿大水産学部柏田研一教授，実験に援助を受けた金沢昭夫君に深謝の意を表する。また使用菌は発酵研究所長長谷川氏から分譲を受けた，併せて謝意を表する。

文　　献

1) H. E. SAUBERLICH and C. A. BAUMANN: J. Biol. Chem., **176**, 165 (1948).
2) W. SHIVE, T. J. BARDOS, T. J. BOND and L. L. ROGERS: J. Am. Chem. Soc., **72**, 2817 (1950).
3) J. A. BROCKMAN, B. ROTH, H. P. BROQUIST, M. E. HULTQUIST, J. M. SMITH, M. J. FAHRENBACH, D. B. COSULICH, R.P. PARKER, E. L. R. STOKSTAD and J. H. JUKES: J. Am. Chem. Soc. **72**, 4325 (1950).
4) J. C. KERESZTESY and M. SILVERMAN: J. Am. Chem. Soc. **73**, 5510 (1951).
5) 勝沼信彦・赤堀四郎: 田宮博編集 "酵素化学の進歩" 第5集のIII，p. 326.
6) 金沢昭夫・柿本大壱: 本誌，**24**, 573 (1958).
7) 柿本大壱・金沢昭夫: 本誌，**24**, 933 (1959).
8) 柿本大壱・金沢昭夫: 本誌，**25**, 431 (1959).
9) C. H. HILL and M. L. SCOTT: J. Biol. Chem., **196**, 189 (1952).
10) C. H. HILL and M. L. SCOTT: J. Biol. Chem., **196**, 195 (1952).
11) M. SILVERMAN and R. C. GARDINER: J. Bact. **71**, 433 (1956).
12) H. P. BROQUIST, E. L. STOKSTAD and T. H. JUKES: J. Biol. Chem., **185**, 399 (1950).

カツオ幽門垂中の未知因子に関する研究—II.
未知因子の性質

柿 本 大 壱

(1960 年 4 月 8 日受理)

STUDIES ON AN UNKNOWN FACTOR IN THE PYLORIC COECA OF SKIPJACK—II.
CHARACTERISTICS OF THE UNKNOWN FACTOR (Part. 1)

Daiichi KAKIMOTO*

1. At variance with the known CF which readily loses the power of promoting the growth of *Leuconostoc citrovorum* after being kept at a pH lower than 2.0, the unknown factor is not damaged of its activity toward this microorganismus even when exposed to any pH in the range from 1.0 to 14 (Table 1).

2. The unknown factor is comparatively unstable to a strong acid. It loses said promotive power to some extent when boiled in 5% H_2SO_4 and is completely invalidated by heating with 25% H_2SO_4 (Fig. 2 and 4). On the other hand, the unknown factor remains comparatively stable against a strong alkali. Its characteristics toward *Leuc. citrovorum* are not damaged even when kept in contact with 10% KOH (see Fig. 3). In this connection, the response of *Leuc. citrovorum* to the unknown factor appeared to be more or less strongly suppressed in the presence of salt inevitably ensuing from the neutralization of the agent employed in acidification or alkalization.

3. The unknown factor can be selectively adsorbed on an ion-exchange resin, only when the resin is of strong acid form (see Table 2 and Fig. 5). It can also be desorbed from the exchanger by means of 0.5 N NaOH.

4. The unknown factor itself could not be precipitated by the addition of any agent thus far tested.

5. A crude preparation of the unknown factor was positive to diazo reaction, Morlish's reaction and Folin's reaction, but negative to ninhydrin reaction (Table 4).

前報[1]で著者は幽門垂中に *Leuconostoc citrovorum* の発育を促進し，しかも CF と異なり酸に対して比較的安定な未知因子が存在することを知つた。しかしながら，この未知因子がまだ組成，構造の全く知られない物質なのか，あるいは CF と類似しているプテリンの同族体の一種であるかについては全く予想し難いところである。すなわち Bioautography の結果では，幽門垂エキスに CF 以外の因子が存在することが証明され，pH 2.0 ではその因子が失活しない性質を有することが明らかにされたに過ぎない。本報告は前報に引続き，未知因子の有する性質の一端を記述するものである。

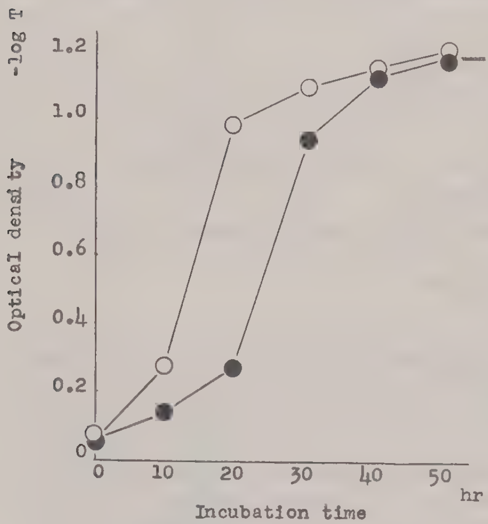
実験結果および考察

I. 未知因子と CF の比較

i. *Leuc. citrovorum* の繁殖と両因子との関係： カツオ幽門垂中には *Leuc. citrovorum* の発育を促進する二つの因子が含まれており，その一つはすでに知られている CF であり，他の一つは著者が未知因子と

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ.).

仮定している因子であつて，酸に対する安定度において CF に優つている。CF 測定用の基礎培地では未知因子が CF にかわり得る性質を有しているが，このことに関し，両因子が *Leuc. citrovorum* の発育過程におよぼす発育促進効果を互に比較するためつぎのような実験を行つた。両因子の分離は，前報で述べた Butanol，Ethanol，Ammonia および水からなる展開剤を用いる沪紙クロマト法によつた。すなわち 30×30 cm の大型沪紙上に試料を一直線にとり，展開を行なつた後，CF および未知因子の部分を別々に切りとりそれぞれ 5 cc の水で抽出した。ここに得た各抽出液 1 cc 宛を採り，37°C，72 時間の培養後，濁度法で測定される *Leuc. citroverum* の繁殖が half maximum になるように稀釈調製する。つぎに両液をいずれも 2 倍に濃縮し，各 1 cc 宛を用いて Bioassay を行ない時間毎に示した菌の繁殖を濁度法で測定した。成績は **Fig. 1** の通りである。図に示したように *Leuc. citrovorum* の繁殖が 72 時間培養で同一レベルになるように調整された両因子を用いて培養時間毎にその菌の繁殖程度を測定すると，菌がこれら両因子のおのおのに応じて異なつた繁殖を示すことがわかる。すなわち因子の違いによる繁殖度の相違は培養の初期に著しく，未知因子は培養後 10 時間までの各時間で CF に劣りこの差は 20 時間後に至つて最も顕著になる。その後 30 時間から 40 時間にわたり，次第に両者の差は減少し，50 時間では全く同等になる。未知因子による発育曲線はかなり明瞭な S 字型を取るといえよう。しかしながらこの原因は目下のところ不明である。



-○- response to CF
-●- response to the Unknown Factor

Fig. 1. Time responses of *Leuc. citrovorum* to CF and the unknown factor, respectively, evaluated according to the turbidity T, produced.

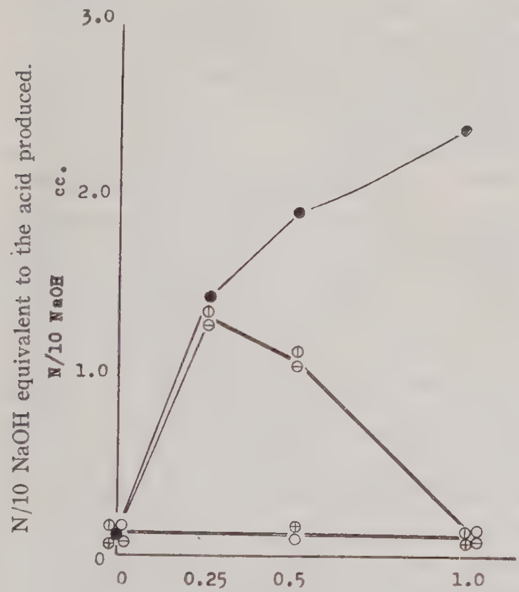
ii. 未知因子の酸，およびアルカリに対する安定度： 前報で述べたように CF は pH 2.0 で室温に一昼夜以上放置しただけで *Leuc. citrovorum* の発育促進効果を全く失うにもかかわらず，未知因子はかかる条件では何ら影響を受けないことがわかつた。本項では前回の実験をさらに拡張して pH 1.0 から 14 に至る範囲の影響を検べた。試料は前項の実験と同様に沪紙クロマト法で分離した CF，ならびに未知因子を用いた。すなわち分離したこれらの因子を含む溶液に稀塩酸または稀苛性カリを加えて pH を 1.0 から 14 の範囲でいろいろな pH に調整し，さらにこれらを 30 時間宛 25°C に保つた。その後直ちに pH を 6.8 に調整し，常法にしたがい，おのおの 1 cc 宛をそれぞれ基礎培地 1 cc 宛に加え，殺菌後 *Leuc. citrovorum* を植え，37°C，72 時間培養した。**Table 1** は菌の生産した酸を滴定法で測定した結果である。これによると CF は pH 1, 2 に保つことによつて完全に失活し pH 4 では恢復を示しはじめ，pH 6.0 では無処理のものと等しい。またアルカリには安定で pH 14 でも活性を失うことがない。これに比べ未知因子は pH 1.0 から 14 の全範囲で処理しても失活は認められなかつた。

Table 1. Restorations of the unknown factor and of CF after exposure to various pH's.

The pH value at which CF or the unknown factor was kept for 30 hrs. at 25°C.	Amount of 0.1 N NaOH (cc) corresponding to the acid produced by *Leuc. citrovorum* (37°C, 72 hrs incubation)	
	CF	Unknown factor
pH 6.8 (intact sample)	2.3	2.3
〃 1	0	2.2
〃 2	0	2.3
〃 4	1.4	2.1
〃 6	2.3	2.3
〃 8	2.2	2.2
〃 10	2.3	2.3
〃 12	2.3	2.4
〃 14	2.3	2.3

iii. 酸およびアルカリに対する安定度： 前項の実験では pH 1.0 から 14 までの極く稀薄な酸，アルカ

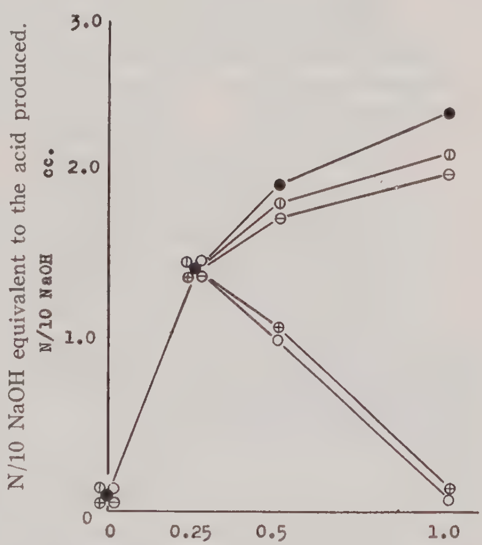
リによる安定度を明らかにしたが，未知因子がどの程度の酸，アルカリによつて活性を失うかを知るため，前項の要領にしたがい分離した未知因子に塩酸，又は苛性カリを加え，その濃度を 2%，10% にし 30 時間，25°C に保つたものを試料として実験した。またこれとは別に酸，アルカリの濃度を同一にし，100°C，30 分間煮沸したものについても未知因子の活性度を検べてみた。以上の方法では菌の発育が，試料の pH を調整するために生じた塩類によつて阻害されるので，基礎培地 1 cc に加える試料を 1，0.5，0.25 cc の三種類にし，蒸溜水で全容を 2 cc にうすめたものを用いて菌の発育を測定し，未知因子の耐酸，耐アルカリ性を知ることができた。試験結果は **Figs. 2, 3** の通りである。すなわち著者の予想したように酸，ならびにアルカリ濃度 2% 以上で未知因子を処理したもので菌の発育促進効果を試験するときは，この試料は当然中和して用いねばならないが，ここに生じる塩類濃度は菌の発育を阻害し得る。したがつて **Figs. 2, 3** でも明らかなように酸，アルカリが 2% 以上の濃度では阻害がみられるが，試料を少量すなわち 0.25 cc 用い，水で稀釈したものではそれがみられない。たとえば苛性カリを用いた場合について見ると，2，10% の苛性カリ濃度で処理したものも無処理のものも 0.25 cc の試料を稀釈して用いた場合には，菌の繁殖は全く一致している。また無処理の試料に塩類を加えて処理した試料に併せたものでも同じ結果を得ている。したがつて未知因子は 10% の苛性カリで処理しても，なお安定な物質であることがわかつた。つぎに塩酸で処理し



Amount of neutralized solution containing acid-treated unknown factor. (dosage in cc/cc)

-●- The unknown factor as an intact solution.
-⦶- The unknown factor previously kept in 2% HCl at 25°C.
-⊖- The unknown factor previously heated in 2% HCl at 100°C.
-⊕- The unknown factor previously kept in 10% HCl at 25°C.
-○- The unknown factor previously heated in 10% HCl at 100°C.

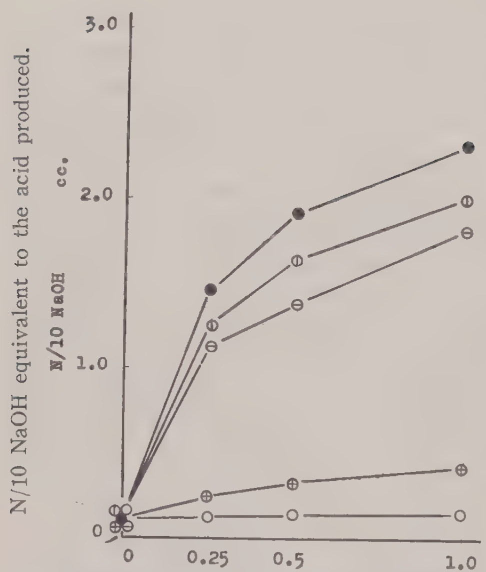
Fig. 2. Acid production by *Leuc. citrovorum* dosed with various amounts of the unknown factor previously treated with HCl and subsequently neutralized.



Amount of neutralized solution containing alkalitreated unknown factor. (dosage in cc/cc)

-●- The unknown factor as an intact solution.
-⦶- The unknown factor previously kept in 2% KOH at 25°C.
-⊖- The unknown factor previously heated in 2% KOH at 100°C.
-⊕- The unknown factor previously kept in 10% KOH at 25°C.
-○- The unknown factor previously heated in 10% KOH at 100°C.

Fig. 3. Acid production by *Leuc. citrovorum* dosed with various amounts of the unknown factor previously treated with KOH and subsequently neutralized.



Amount of neutralized solution containing acid-treated unknown factor. (dosage in cc/cc)

-●- Intact solution.
-⦶- Hydrolyzed with 2% H_2SO_4, neutralized with $Ba(OH)_2$ and removed SO_4.
-⊖- Hydrolyzed with 5% H_2SO_4, neutralized with $Ba(OH)_2$ and removed SO_4.
-⊕- Hydrolyzed with 10% H_2SO_4, neutralized with $Ba(OH)_2$ and removed SO_4.
-○- Hydrolyzed with 25% H_2SO_4, neutralized with $Ba(OH)_2$ and removed SO_4.

Fig. 4. Acid production by *Leuc. citrovorum* dosed with various amounts of the unknown factor previously treated with H_2SO_4 and removed the acid for barium salt.

たものは，2% では活性を失わないが，10% では失活することが認められた。以上のごとく未知因子は酸に対しても CF に比べれば，遙かに安定であるが，それにも増してアルカリに安定な成分である。酸に対する安定度を確めるため，さらに塩酸の代りに硫酸を用い前記同様 100°C で 30 分間処理し，硫酸をバリタで中和して除いた試料についても試験した。**Fig. 4** はその成績を示したものである。すなわち，未知因子は 10% の硫酸で大部分が失活するが，さらに 25% で完全に失活することを知つた。

II. イオン交換樹脂と未知因子

未知因子と CF はともに *Leuc. citrovorum* の発育を促進する共通の性質はあるが，その他には両因子の間には性質上の一致はなく，未知因子を分離して，その組成，構造を明らかにしなければ終局の解明を得ることはできない。本項では，分離にさきだち，イオン交換樹脂に対する未知因子の交換性を報告する。試料は前項までにしばしば述べたごとく，沪紙クロマト法で分離した未知因子フラクションを用い，*Leuc. citrovorum* の発育が 37°C で 72 時間培養した時に half maximum の繁殖を示す溶液を2倍に濃縮して調製したものである。かように調製した試料溶液は前記の培養条件で N/10 NaOH の滴定値が 2.3cc の生酸を示す。また本実験に使用したイオン交換樹脂は，カチオン交換体として Amberlite IR・120, IRC・50, アニオン交換体としては Amberlite IRA・400, IR・4B の4種類である。交換用カラムは径 1.1cm の硬質製ガラス管を用い，約 10cc の樹脂により実験した。流速は1分間に 1cc の割合とした。試料を樹脂カラムに通じ，漏洩部中の未知因子を測定することにより，樹脂の交換能を試験した。すなわち漏洩部が菌の発育を促進する結果を得れば，その場合に用いた交換樹脂は未知因子を交換吸着する能力が低いことになる。**Table 2** は4種のイオン交換樹脂が未知因子に対して示した交換能である。表で示したように未知因子は IR・120, IRC・50 のようなカチオン交換樹脂には全く交

Table 2. Adsorption of unknown factor on ion exchange resin.

Resin	Resin pretreatment	Response of *Leuc. citrovorum* to leakage from the resin N/10 NaOH (cc)
Amberlite IR・120	Wash with HCl	2.2
〃 IRC・50	〃	2.1
	〃 〃 buffer solution of pH 5.5	2.2
〃 IRA・400	〃 〃 NaOH	0.3
〃 IR・4B	〃 〃 〃	2.2
	〃 〃 buffer solution of pH 6.5	2.2
Intact unknown factor fraction		2.3

換されないのみではなく，アニオン交換樹脂の IR・4B にもカチオン樹脂と同様に全く交換されない。これに比べ強いアニオン交換性を有する IRA・400 にほとんど交換吸着されることがわかり，あたかも未知因子がかなり弱い酸性の物質のように見える。以上のごとく，未知因子が選択的に IRA・400 に交換されることを知つたが，交換された因子を脱着するにはつぎのような方法による。すなわち未知因子を交換吸着した樹脂を水洗した後，N/2 NaOH を通じ，その漏洩部は再び IR・120 のカラムを通じ，アルカリを除去する。ここに得た溶液は未知因子の活性を示す。つぎに N/2 NaOH の未知因子脱着の状態を検べるため，未知因子フラクション 15cc を IRA・400 樹脂 100 cc に交換吸着させ，水洗後 N/2 NaOH で脱着させ，脱着液を逐次 5cc 宛とり，IR・120 でアルカリを除去した後，未知因子の活性を検べてみた。**Fig. 5** はその結果を示したものである。脱着液は最初の 30 cc まで全く活性があらわれないが，40cc に到り顕著な活性が示される。その後次第に活性が高まり，60cc 附近で最高となる。引続き 100cc までこの活性が見られ 110cc で急激に低下する。

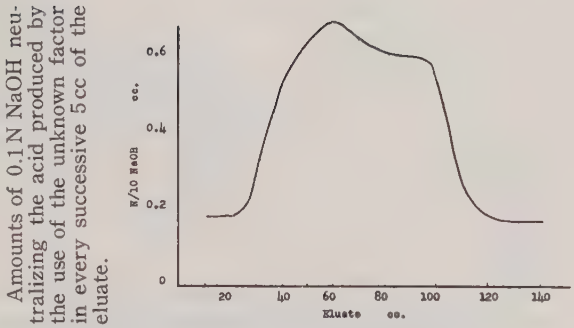


Fig. 5. The response of *Leuc. citrovorum* to the eluate from Amberlite IRA 400 resin on which the unknown factor has been absorbed.

III. 未知因子の沈澱試薬に対する行為

前述の実験で未知因子が IRA・400 で交換される性質を述べた。この因子を分離するためには，この他諸種の手段を構ずる必要がある。本実験は多くの天然物を分離するために普通用いられる沈澱試薬を用い，未知因子が沈澱するか否かを検べた。試料はすでに繰り返えし述べた沪紙クロマト法で分離した未知因子フラクションを，さらに IRA・400 で精製して用いた。また使用した沈澱試薬は **Table 3** に示した通りである。この結果をみると，ほとんどここに掲載した試薬によつて沈澱しないが，わずかにアンモニア性硝酸銀で沈澱する。しかし得た沈澱を水中に懸濁し，硫化水素で分解して銀を除去したものは硫化水素を除去しても未知因子の活性を示さなかつた。この沈澱は恐らく未知因子ではなく不純物であろう。

Table 3. Behavior of unknown factor fraction to the precipitating agents.

Precipitating agents	Precipitation	Amount of the acid produced by the response of *Leuc. citrovorum* to the solution prepared from the precipitant
Picric acid	negative	—
Picronic acid	〃	—
Fravianic acid	〃	—
Phosphotungstic acid	〃	—
Phosphomolybdic acid	〃	—
Sodium tungstate	〃	—
Sodium molybdate	〃	—
Hg_2Cl_2	〃	—
$HgCl_2$	〃	—
$Hg(CH_3COO)_2$	〃	—
$HgSO_4$	〃	—
Hg_2SO_4	〃	—
$Pb(CH_3COO)_2$	〃	—
$CuCO_3$	〃	—
$Ba(OH)_2$	〃	—
Ammoniacal $AgNO_3$	positive	Equiv. to 0.2cc N/10 NaOH

IV. 特殊呈色剤と未知因子

試料は沈澱試薬の章で述べたものと同じである。また試薬は **Table 4** に示した。実験結果をみると，試料はヂアゾ反応，フォリン氏反応，ならびにモリッシュ反応のみが陽性であり，ビューレット反応やニンヒドリン反応は陰性であつた。しかしながら未知因子と，これらの反応との関係につ

Table 4. Color reaction of unknown factor fraction.

Agents or reactions	Coloring action
Ninhydrin	negative
Diazo reaction	positive
Biuret 〃	negative
Sakaguchi's 〃	〃
Millon's 〃	〃
Follin's 〃	positive
Neubauer-Rhode's 〃	negative
Sodium nitroprusside 〃	〃
Jaffe's 〃	〃
Morlish's 〃	positive
Fehling's 〃	negative

いては何等確証を得ることはできない。前章の実験でも想像されるが，このフラクションは完全に純粋な未知因子のみとは思われないので，認められた二，三の反応を未知因子の呈色反応と即断することは甚だ危険である。したがつて本研究は今後この因子の分離精製に当つて参考になるという意味において記載したつもりである。

考　　察

以上各章で述べた研究結果は，著者が，カツオ幽門垂の自己融解物の中に *Leuc. citrovorum*の 発育促進効果を示すCF 以外の物質があり，それが未知の因子であることを証明するためになされた実験の結果に過ぎない。しかして未知因子フラクションとして，ある程度不純物を除いた区分の性質を検べた結果では，アルカリに安定であり，CF に比べると酸でも左程容易に失活することのない成分であることがわかつた。酸は硫酸を用いた結果でみると，10% の濃度で煮沸すると失活するが，著者の予想するところでは，この因子は2種類以上の化合物が縮合してなりたつ物質と考えている。未知因子が結晶として単離されていないので，CF のようにごく微量で微生物の発育を促進させるものか否かについては確認することはできなかつた。イオン交換の点から観察すると，IRA・400 で交換される以外は，何れも全く交換されない。また多くの沈澱試薬によつても容易に沈澱されず，未知因子フラクションがアンモニア性硝酸銀で沈澱するにかかわらず，銀を遊離させても活性があらわれないので，恐らくこの沈澱は未知因子フラクションに含まれる不純物によるものと思われる。これらの事実は今後未知因子の分離決定に利用される可能性もある。諸反応中，糖反応が陽性であるが，Fehling 反応が陰性で，Morlish 反応が反対に強く陽性である。未知因子の一部が糖であるとすれば，核酸等も予想されるが，何れも純粋に分離しなければ決定することができない。

結　　論

1. CF が pH 2.0 で処理すると容易に *Leuc. citrovorum* の発育促進作用を失うのに比べ，未知因子は pH 1.0 から 14 の間では全くその効果を失わない (Table 1)。

2. 未知因子の耐酸，耐アルカリ性を試験した結果では，酸には割合不安定で，5% 濃度の硫酸で 30 分間煮沸すると，やや活性が減少する。10% 濃度で同様に処理するとほとんど活性を失なうに到る。これに比較するとアルカリにはかなり安定で，10%濃度の苛性カリで前と同様に煮沸しても，ほとんど活性を失なわない (Fig. 2, 3, 4)。

3. 未知因子はイオン交換樹脂には選択的に交換され，Amberlite の数種類で試験した結果，IRA・400 にのみ交換される。またこの交換体からは N/2 NaOH で容易に脱着することができる (Table 2, Fig. 5)。

4. 多くの有機化合物沈澱剤によつて沈澱しない。未知因子フラクションがアンモニア性硝酸銀で沈澱したが，銀を遊離したものには，未知因子の活性は認められなかつた (Table 3)。

5. 未知因子フラクションはヂアゾ反応，モリッシュ反応，フォリン氏反応陽性であるが，ニンヒドリン反応，その他多くの反応は陰性であつた (Table 4)。

本研究に御教示を賜つた北大農学部中村幸彦先生，鹿大水産学部柏田研一教授，ならびに実験に援助を受けた金沢昭夫君に深謝の意を表す。また使用した菌は発酵研究所長谷川氏の好意によつた。併せて謝意を表す。

文　　献

1) 柿本大壱　本誌，**26**，759~764 (1960).

魚の輸送—I.
魚の電気抵抗の経時的変化

永松 貢

(1960 年 4 月 19 日受理)

FISH TRANSPORTATION—I.
TIME CHANGE IN ELECTRIC RESISTANCE OF FISH

Mitsugi NAGAMATSU*

As a method for evaluating the freshness of fish in transit, the relative merits of measurements of electric resistance, volatile basic nitrogen, pH and organoleptic test were discussed. The species of fish mainly tested was *Cyprinus carpio*. For information, the distribution of its body temperature was measured at three regions; high, medium, and low.

It was revealed that the time change curve obtained by electric resistance method paralleled those by other methods with respect to the degree of freshness; individual difference and that by the side of body were non-existent, but there was a difference by the site of body, pointing to possible relation with the body constituents; also there was a difference discernible depending upon the species.

魚の鉄道輸送は年々増加し，生鮮貨物の内で輸送量[1] 最も多く 227 万トン（冷凍魚を含む）をこえているが，また痛みやすい貨物の代表的なものであつて，その輸送に当つては常に鮮度保持を念頭におかねばならない。しかるに鮮度の判定方法は官能検査法のほか多くの化学的・物理的・細菌学的方法[2] が提案され，一部公定[3] されているが，どれも決定的な方法であるとはいい難い。この電気抵抗測定法もまだ確定的な方法であるとはいえないが，電気的測定法として共通の，遠隔測定ができ応答が早く操作が簡単迅速で，しかもかなりの正確さを示す点など多くの利点をもつので，十分検討の価値があると考えられる。そこで電気抵抗測定法を従来基本的な方法とされている揮発性塩基窒素，pH の測定法，および官能検査法と比較検討を行い，魚の輸送における鮮度判定の基礎資料を得る目的の下に実験を行つた。

材料および方法

1. 供試魚種 材料には全長 30 cm 前後の生きているコイ *Cyprinus carpio* (LINNÉ) を用い，築地より浜松町に運び（約 30 分）直ちに実験室で延ずいを刺した。なお他の魚種との比較にはキンメダイ *Beryx splendens* (LOWE)，カレイの類の切身を用いた。

2. 魚の温度 コイをふ卵器，アイスボックスおよび低温恒温槽に入れて魚体のほぼ中央背部に熱電対をさしこみ，熱電温度計によつて自記記録した。温度経過は Fig. 1 に示され，平均温度はそれぞれ 21.6°，5.2° および −15.4°C であつた。温度変動の原因は明らかでない。

3. 測定方法

3・1 電気抵抗 (E. R.) 背びれの前端で背線より腹方え 2 cm のところのうろこを取り，背線に平行に白金線電極（白金線径 0.5 mm，長さ 4.0 mm，極間 10 mm）をさし込み，導線をインピーダンスブリッ

* 鉄道技術研究所 貨物輸送研究室 (Freight Transportation Lab., R. T. R. I., J. N. R., 1-Shiba-kaigandori Minato-ku, Tokyo, Japan).

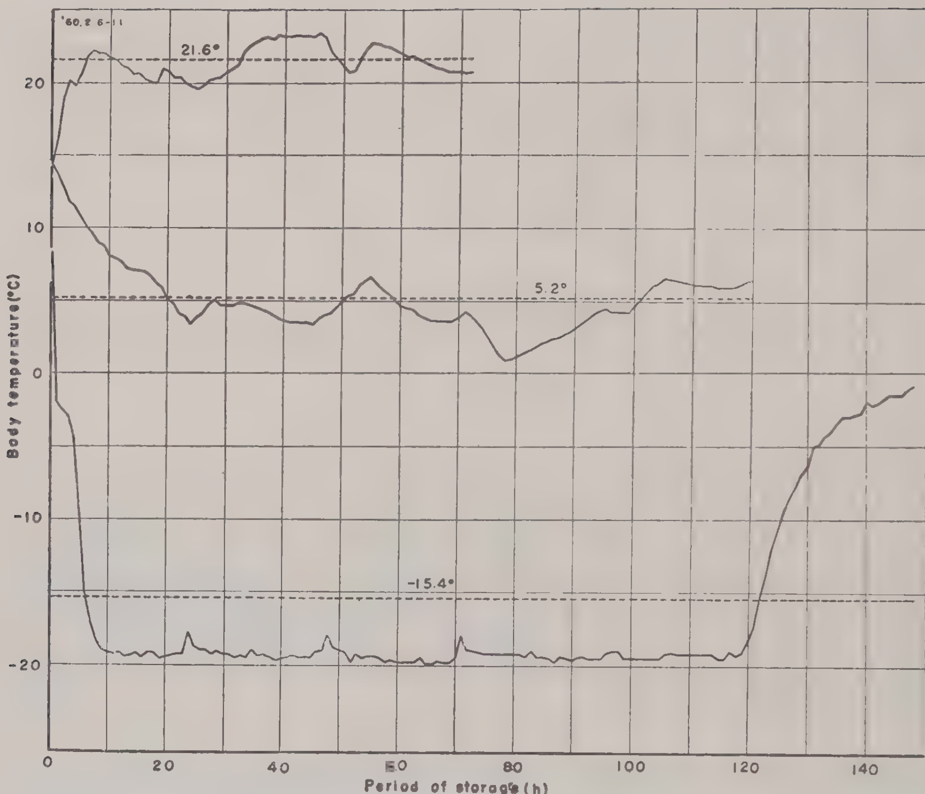


Fig. 1. Time-temperature change of fish.

ジの端子につなぎ，レシーバおよびブラウン管オッシログラフによるブリッジの平衡点において E. R. を求めた。

3・2 揮発性塩基窒素 (VBN)　E. R. 測定の反対体側において頭部の方から毎回 2.0g の試料をとり微量拡散法[4] の常法にしたがつて VBN を測定した。

3・3 pH　pH は 3.2 の測定中に蒸溜水抽出液について pH 試験紙 (MR) を用いて測定した。

3・4 官能検査[5]　主に皮膚，えら，眼球およびにおいについて観察し参考とした。

実　　験

1. E. R., VBN および pH の経時的変化　平均温度 21.6°C, 72 時間；平均温度 5.2°C, 120 時間経過における E. R., VBN, pH および官能検査の結果は Table 1 および Fig. 2 に示される。平均体温に達するのに 21.6°C の場合は 6 時間，5.2°C の場合は 20 時間かかつているが，E. R. はともに次第に下つて，21.6°C の場合は 75 時間たつと 5.2°C の場合に 120 時間たつたのと大体同じ位の値となる。このことは筋肉内の変化の速度が魚体温度の影響を受けるためであろう。VBN は E. R. の変化に比べて変化が少なく特に 5.2°C の魚において著しい。pH 値はほとんど変化を認めなかつた。なお平均温度 −15.4°C の場合，E. R. は −19°C 前後において一定値を示し，オッシログラフには誘導によると思われる巾広の電圧波形が表われた。

Table 1. Time change in freshness of carp at mean temperature 21.6°C and 5.2°C.

Mean temperature 21.6°C.

Period stored (h)	Elec. res. (kΩ)	VBN* (mg%)	pH	Organoleptic test			
				Flesh	Gills	Eyes	Smell
0	2.50	9.62	5.8	firm	red	clear	fresh
2	2.44	—	—	—	—	—	—
4	2.44	9.88	5.8	a little stiff	do.	a little sunken	do.
6	2.27	—	—	—	—	—	—
24	1.72	10.14	5.8	stiff	do.	cloudy	do.
26	1.54	—	—	—	—	—	—
28	1.49	10.67	5.8	do.	do.	do.	do.
30	1.25	—	—	—	—	—	—
48	0.71	15.61	5.8	elastic	greenish	sunken	unpleasant
50	0.70	—	—	—	—	—	—
52	0.69	16.65	5.8	do.	do.	do.	do.
54	0.69	—	—	—	—	—	—
72	0.57	18.73	5.8	finger impressions remain	do.	do.	stale

Length 28.5 cm, weight 400 g. * VBN: volatile basic nitrogen.

Mean temperature 5.2°C.

Period stored (h)	Elec. res. (kΩ)	VBN (mg%)	pH	Organoleptic test			
				Flesh	Gills	Eyes	Smell
0	2.95	7.54	5.7	firm	red	clear	fresh
2	2.87	—	—	—	—	—	—
4	2.81	8.32	5.8	do.	do.	do.	do.
6	2.58	—	—	—	—	—	—
24	1.98	9.88	5.8	do.	do.	do.	do.
26	1.82	—	—	—	—	—	—
28	1.65	11.19	5.8	do.	do.	a little sunken	do.
30	1.53	—	—	—	—	—	—
48	1.37	11.97	5.8	do.	do.	do.	do.
50	1.28	—	—	—	—	—	—
52	1.16	12.23	5.8	do.	do.	do.	do.
54	1.14	—	—	—	—	—	—
72	1.10	12.49	5.8	do.	do.	do.	do.
74	1.11	—	—	—	—	—	—
76	1.13	—	5.8	do.	do.	do.	do.
78	1.08	—	—	—	—	—	—
96	1.00	13.27	5.8	elasticity a little down	pale	do.	unpleasant
98	0.98	—	—	—	—	—	—
100	0.94	13.53	5.8	do.	do.	do.	do.
102	0.82	—	—	—	—	—	—
120	0.65	13.01	5.8	do.	brownish	sunken	do.

Length 30.5 cm, weight 500 g.

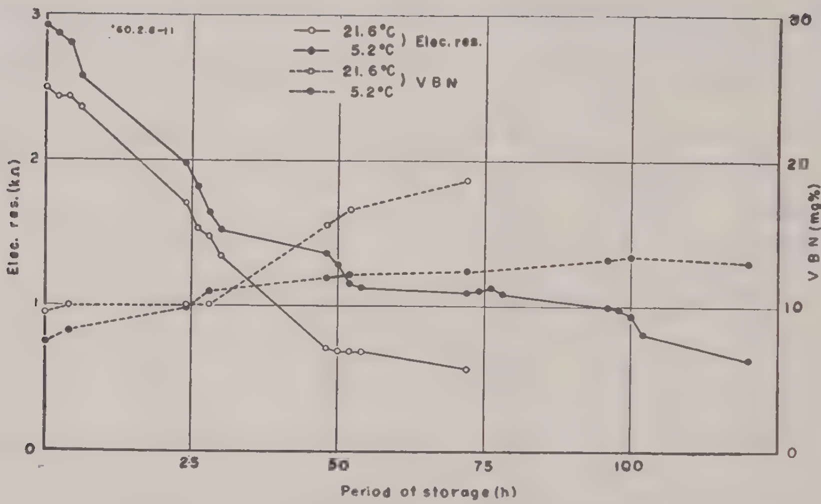


Fig. 2. Time change in electric resistance and volatile basic nitrogen contents of carp.

2. 試料，体側，部位による電気抵抗値の均一性検定　三元配置法によつてつぎのようにわりつけた。

試料 (A_1, A_2, A_3)：

全長 (cm)　$A_1 = 27.2$

$A_2 = 28.3$

$A_3 = 26.7$

体重 (g)　$A_1 = 330$

$A_2 = 370$

$A_3 = 250$

体側 (S_1, S_2)：頭を前に背びれを上にして S_1：左側，S_2：右側。

部位 (P_1, P_2)：P_1 は背びれの前端で背線より腹方え 2cm の位置，P_2 は同じく後端の等位置。

測定の結果 (Table 2) を分析して交互作用はどれも誤差項に対して有意でないので，これを誤差項にプールした結果は Table 3 のように示され，試料および体側については差を認めないが，部位においては高度に有意である。この点は Table 2 に見られるように前部は後部に比べて E. R. が低く表われている。

3. 鮮度低下と魚の温度による電気抵抗の変化　つぎに鮮度低下と魚の温度による E. R. の変化をみるために，新鮮

Table 2. Individual difference in electric resistance of fish.

Sides / Sites / Samples	S_1		S_2		Total	Sample mean
	P_1	P_2	P_1	P_2		
A_1	1.56	2.22	1.64	2.13	7.55	1.89
A_2	1.75	1.85	1.54	2.08	7.22	1.81
A_3	1.92	2.04	1.82	1.96	7.74	1.94
Total	5.23	6.11	5.00	6.17	22.51	1.88
Mean	1.74	2.04	1.67	2.06		
Mean on each side	1.89		1.87			
Mean of each side	$P_1 = 1.71$, $P_2 = 2.04$					

Table 3. Analysis of variance of the data in Table 2.

S. v.	d. f.	s. s.	m. s.	F
Samples	2	346.17	173.09	0.75
Sides	1	24.09	24.09	0.10
Sites	1	3502.09	3502.09	15.20**
Error	7	1612.57	230.37	
Total	11	5484.92		

S.v.: source of variation. d.f.: degrees of freedom. s.s.: sum of squares. m.s.: mean square. F: variance ratio.

Table 4. Time change in electric resistance of fish caused by the degree of freshness.

Period stored (min.)	Elec. res. (kΩ)		Body temp. (°C)	
	Fresh fish	Non fresh fish	Fresh fish	Non fresh fish
0	7.35	1.41	9.3	15.6
10	5.68	1.37	14.6	18.8
20	5.00	1.22	16.9	20.9
30	4.88	1.19	19.4	22.6
40	4.83	1.12	21.1	23.8
50	4.78	1.11	23.3	25.4
60	4.76	1.10	24.9	26.6

	Fresh fish	Non fresh fish
Length (cm)	29.5	28.5
Weight (g)	400	400

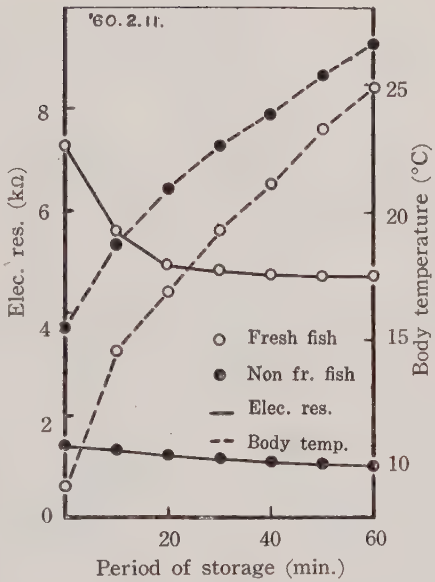


Fig. 3. Time change in electric resistance of fish caused by the degree of freshness.

魚と不新鮮魚（1. の 5.2°C, 120 時間たつた試料）を高温のふ卵器に移して魚の温度を上げながら E. R. を測定した。その結果は Table 4, Fig. 3 にあるように新鮮魚と不新鮮魚との間には E. R. にはつきり差が表われている。

4. 魚種による電気抵抗変化の差異　魚種による差異をみるためにキンメダイとカレイの切身について背肉と腹肉を測定した結果は Table 5, Fig. 4 に示されるが，E. R. がキンメダイでは直線状に，カレイでは抛物線状に低下し，背肉は腹肉よりやや小さな値を示しており，特にキンメダイにおいて差が見られるようである。

Table 5. Time change in electric resistance of common flatfish and *Beryx splendens*.

Common flatfish Period stored (h)	Elec. res. (kΩ) Dorsal mus.	Ventral mus.	*B. splendens* Period stored (h)	Elec. res. (kΩ) Dorsal mus.	Ventral mus.
0	5.55	7.60	0	3.33	6.33
2	4.11	5.15	2	3.37	5.57
4	4.03	4.24	18	2.77	4.26
19	2.00	1.91	20	2.70	4.00
21	1.94	2.25	22	2.35	3.70
23	1.63	2.00	24	2.25	3.53
25	1.67	1.95	26	2.11	3.22
27	1.57	1.77	42	1.40	2.00
43	1.14	1.39	44	1.45	1.88

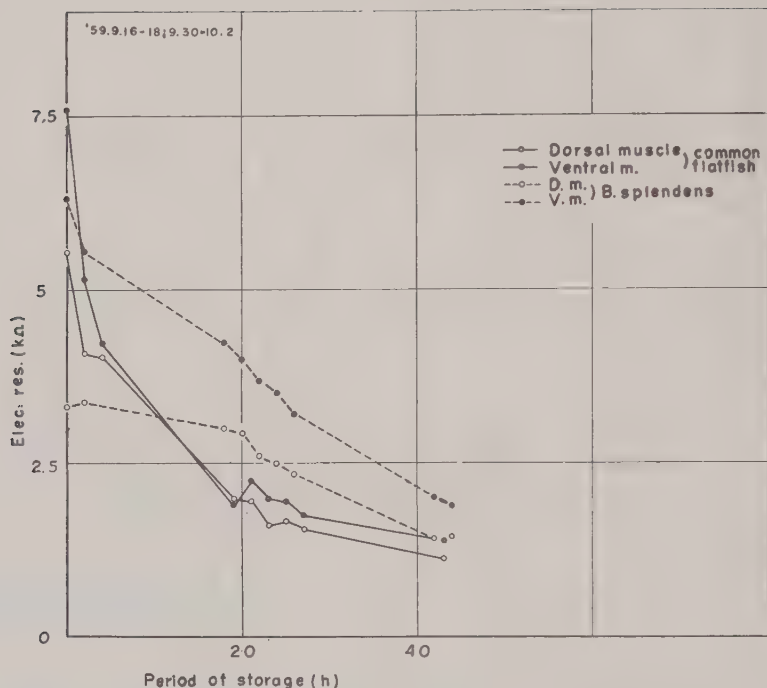


Fig. 4. Time change in electric resistance of common flatfish and *Beryx splendens*.

考　　察

生体細胞内変化の測定に電気抵抗を用いることは古く HöBER[6] の成書に現われ，魚の鮮度変化についても田村[7] をはじめ多くの報告[8)-13)] がある。どれも経時的に E. R. が低下し，新鮮魚と不新鮮魚の間に明らかな差があることを認めている。この実験ではまだ腐敗の段階に至つていないが，従来，流通過程において用いられている官能検査法を参考に E. R. の変化と VBN の変化を比較してみると，E. R. の変化の割合の方が大きいように思われる。pH による変化は試験紙を用いたためかはつきりした差は認められなかつた。E. R. の個体差については浅川[13]も差のないことを述べている。体側によつて差がない点は，奥田[11] が両体側筋成分が左右同一であるとしていることと一致する。しかし部位差については，頭に近い部分が尾に近い部分より低く表われており，キンメダイが部位によつて差があつても 30°C において 4 時間後にほぼ同じ位の E. R. を示し，また浅川が遊離の SH 基を測定し 20°C で 6 時間後に等値となることを明らかにしているとはいえ，部位差については考慮の余地があると思う。魚種による差はキンメダイ，カレイの例に見るように差がある。なお Table 1, 4 における E. R. の絶対値の差については電極による違いおよびセット状態によるものと考えられ，経時的変化としては問題とならないが，応用の際には特に重要であると考えられる。

鮮度の変化は当然成分の変化の表われであつて，成分と E. R. との関係については浅川[13]，山田ら[10] の研究があるが，筆者はブラウン管オッシログラフに表われる電圧波形の変化について検討しているので後報する予定である。

また時間－温度積分値による鮮度推定および輸出品種であるサバ，サンマなどについても実験を進めたいと考えている。

摘　　　要

魚の輸送に関連し，その鮮度判定法に用いる目的で，電気抵抗測定法と揮発性塩基窒素および pH を測定する方法ならびに官能検査法との比較検討を行なつた。

材料には主にコイを用い，高・中・低温の3区に分つて，魚の温度をも参考に測定した。

その結果，電気抵抗の経時的変化は比較の試験法と平行に鮮度を示すようであり，試料差，体側による差はなく，部位による差が見られ，成分との関連があるようである。また魚種によつても差があることが判つた。

終りに，終始御懇篤な御指導を賜わつた東海区水研右田正男部長，当所長谷川良雄室長，試料の取扱および分析法について御教示を頂いた東海区水研尾藤方通技官の各位に厚く感謝の意を表する。

文　　　献

1) 日本国有鉄道事務管理統計部: 昭和 33 年度鉄道要覧，運輸 75 (1959).
2) 天野慶之: 缶詰製造講義　上巻，東京，日本缶詰協会 (印刷中).
TOMIYASU, Y. and B. ZENITANI: Advances in Food Research, Ⅶ, 42～82, Academic Press, New York (1956).
3) 厚生省編: 衛生検査指針 Ⅲ，食品衛生検査指針 (Ⅰ)，東京，協同医書 (1959).
4) 関根　隆: 水産食品衛生，69～72，東京，紀元社 (1959).
CONWAY, E. J.，石坂音治訳: 微量拡散分析および誤差論，82～84，東京，南江堂 (1957).
5) 高瀬　明・尾藤方通: 水産食品の腐敗と中毒，65～68，東京，績文堂 (1959).
6) HÖBER, R.: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 381～383, Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig u. Berlin (1914).
7) 田村健治: 本誌，**1**，168 (1932).
8) BANFIELD, F. H.: *J. Soc. Chem. Ind.*, **54**, 411 T (1935).
9) 山村弥六郎: 本誌，**10**，83 (1941).
10) 山田紀作・北野栄一: 本誌，**13**，232 (1948).
11) 伊藤秀三郎・京塚亘夫・杉崎千登子: 農化，**23**，192 (1949).
12) 松井武夫・原　清・高瀬　明・稲垣耕一: 日獣医師会雑誌，**7**，18 (1954).
13) 浅川末三: 本誌，**22**，718 (1957).
14) 奥田　譲: 東京化学会誌，**38**，854 (1917).

網糸の振れ振動について

永　田　　正

(1960 年 4 月 30 日受理)

ON THE TORSIONAL OSCILLATION OF NETTING CORDS

Tadashi NAGATA*

It is well known that from the observation of the period of torsional oscillation of a wire suspending a weight, we can determine the modulus of rigidity of the wire. This method can not be applied to the case of a netting cord, because a heavy weight hung down by a cord rotates about the axis of the cord gradually untwisting that cord. If a weight attached to a cord is light, it does not rotate, and can be set in torsional oscillation. But this oscillation is damped so rapidly that the measurement of the period is difficult.

Now, in the present experiment, the upper end of a cotton cord suspending a light weight is fixed to the lower end of a metal rod which is held vertically, and can be made to oscillate about its axis at a given amplitude. The ratio (m) of the amplitude of the lower end to that of the upper end of the cord, and the phase difference (φ) between the oscillations of the lower end and the upper end were observed. From the analysis of the observed values of m and φ depending on the frequency of oscillation, it was found that the behaviour of the cotton cord can be understood by the Voigt model. Further, the rheological constants for cotton cords of various diameters were obtained.

緒　　論

針金の振れの常数は，重錘を吊り下げて振れ振動を行なわせ，その振動の周期を測定すれば，計算から簡単に求めることができる。しかしながらこの方法はそのまま網糸の場合に応用することはできない。なんとなれば，網糸に相当な重さをもつた重錘を吊り下げると上撚りの解ける方向に回転をはじめ，ついにはほどけてしまうからである。そのため安田[1]は，同種の糸を二本引き揃えて重錘を吊り下げるとおのおのの糸が解けて回転するためからみ合い，ある点で釣り合つて回転が止まることに着目し，その振動の周期を測定して1本の糸についての振れの常数を間接的に求めた。しかしながらこの場合おのおのの糸は上撚りがかなりほどけた状態になるし，また後に述べるように本実験から分つた結果によると，振れの常数はおもりの重さによつて変化するから，安田の方法で求めた結果は，自然の撚りの状態で荷重が零の場合に求めた結果とは少しく異なつたものが得られるであろうと思われる。

ところで上述のような回転の生じるのは網糸に張力が生じるためであるから，吊り下げるおもりを非常に軽くすると回転はほとんど起らず，そのため振れ振動を行なわせることが可能になるが，この場合の振動は減衰が早いので周期の測定が困難である。しかのみならず，網糸のような物質を単純な弾性体と同じような方法で取扱うことも適当であるとは思えないので，以下に述べるように J. WAZER と H. GOLDBERG[2] が，高分子溶液の粘弾性的性質を，振動的外力に対する共振の観測から測定した方法を少しく改良して，網糸の場合に応用した。

実 験 方 法

上端を固定した長さ l の網糸の下端に吊り下げたおもりの振動が，ベクトル $\Phi = \phi_0 e^{j\omega t}$ で表わされると

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

き，網糸に生じる偶力 M が

$$\left.\begin{aligned} M &= -\frac{Z_{(\omega)}}{l}\frac{d\Phi}{dt} \\ Z_{(\omega)} &= X_{(\omega)} + j\,Y_{(\omega)} \end{aligned}\right\} \tag{1}$$

で表わされ得ると仮定する。

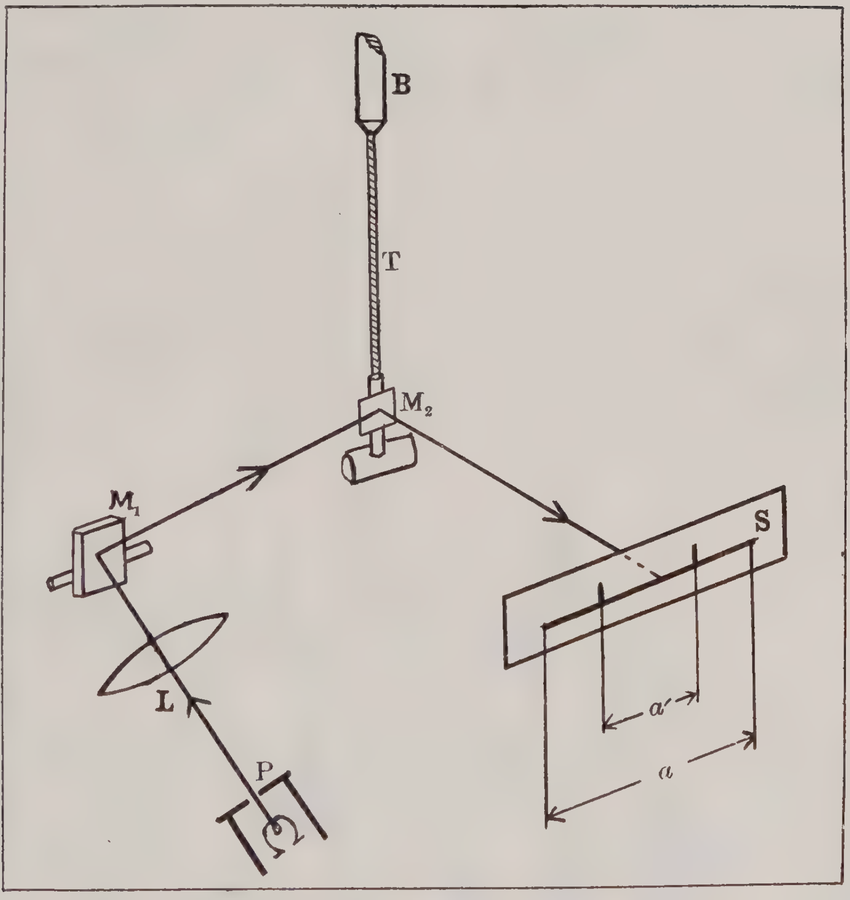


Fig. 1. The arrangement of apparatuses.

さて今 Fig. 1 に示すように，垂直に置かれた丸棒 B の下端に長さ l の網糸 T の上端を取り付け，変速モーターで駆動される装置によつて B をその軸のまわりに正弦的に振動せしめ，その振動を $\Theta = \theta_0 e^{j\omega t}$ で表わす。そのとき T の下端に吊り下げられた慣性能率が I のおもりが $\Theta' = \theta_0' e^{j(\omega t - \varphi)}$ なる振動をするとすれば，(1) を参照して

$$I\frac{d^2\Theta'}{dt^2} = -\frac{Z}{l}\frac{d}{dt}(\Theta' - \Theta)$$

すなわち

$$\frac{\Theta'}{\Theta} = \frac{Z/l}{Z/l + jI\omega} \tag{2}$$

が得られる。

そこで網糸の下端と上端の振幅の比

$$m=\frac{\theta_0'}{\theta_0} \tag{3}$$

および位相の差

$$\varphi=-\arg\frac{\Theta'}{\Theta} \tag{4}$$

を実測することができれば，(2) から Z の成分 X と Y を計算で求めることができる。

m と φ はつぎのようにして測定した。Fig. 1 において，ピンホール P から出てレンズ L を通つた光は 2 個の鏡 M_1, M_2 で反射した後，磨り硝子に長さを目盛つたスケール S の面に P の像を結んで輝点を生じる。鏡 M_2 は糸の下端のおもりに取りつけてあるので，おもりが振動すると S の上の P の像は振幅が $a/2$ の直線振動を行なうが，鏡 M_1 は B がその振動の中心を通過する瞬間毎に，光電管とリレーを組合わせた装置によつて，瞬間的に上方へわづか傾かされるので S の上の輝点の振動の中心から左右へそれぞれ $a'/2$ の距離の点に 1 本づつ輝線を生じる。このように 2 本の輝線を生じるのは網糸の上端と下端に位相の差があることを示すもので，もし位相差がなければ中心に 1 本の輝線が生じるだけである。

実験室を少し暗くしておけば，S の上の像を肉眼で観測して a, a' を測定することができる。a, a' が求まれば，M_2 と S との距離を L として

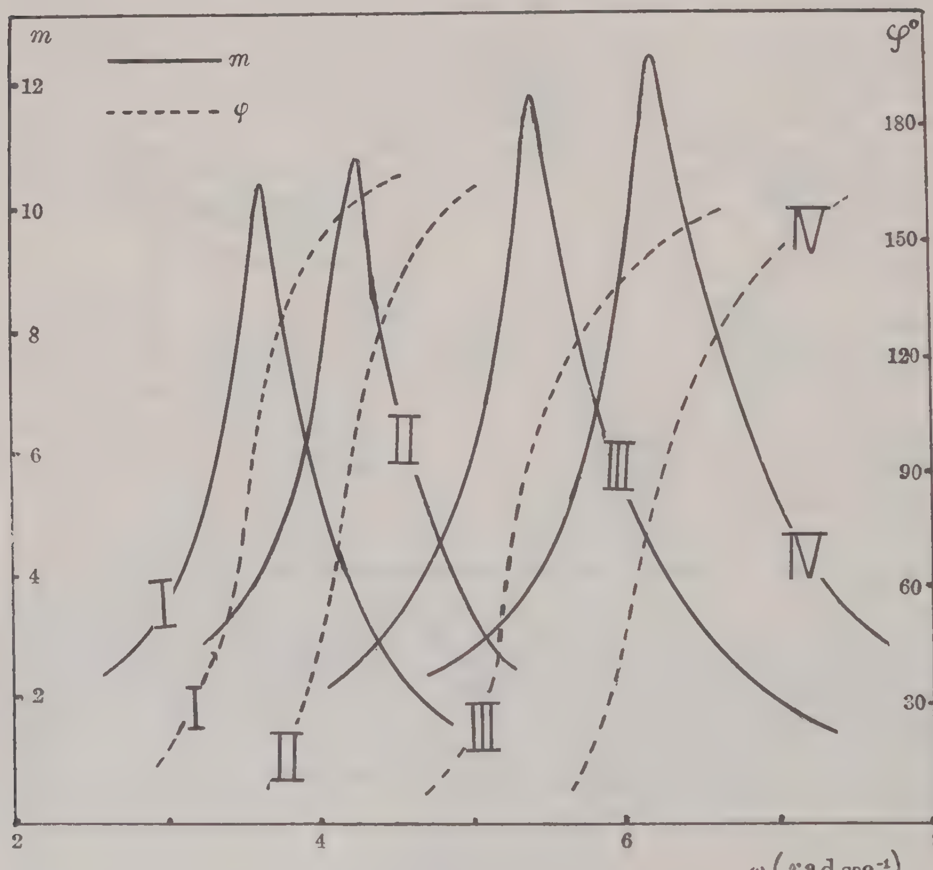


Fig. 2. Resonance curves of a 4～20′s cotton cord 30 cm long for various weights. I: I = 4.4, II: I = 3.5, III: I = 2.1, IV: I = 1.6 gr cm². (the mass of each weight is 2.0 gr.)

$$\left.\begin{aligned} \theta_0' &= \tan^{-1}\frac{a}{2L} \\ \varphi &= \sin^{-1}\left\{\left(\tan^{-1}\frac{a'}{2L}\right)\Big/\left(\tan^{-1}\frac{a}{2L}\right)\right\} \end{aligned}\right\} \qquad (5)$$

なる関係から θ_0', φ が求まる。θ_0 は実験中を通じて一定の値に保つてあるので，はじめにこれを測定しておけば，m は θ_0' と θ_0 の比として求まる。振動の周波数はモーターの速度を変えることによつて連続的に変化させられる。周波数が変わると m, φ が変化するので，X, Y の周波数による変化を調べることができるが，1個のおもりで測定できる周波数の変化の範囲は余り広くないから，重さが相等しくて慣性能率が少しづつ異なるおもりを数個用意しておいて，これらを順々に取りかえて測定を行ない，所望の周波数の範囲の全域にわたつて測定ができるようにした。

実験結果

Fig. 2 に，長さ 30 cm の 20′s 四号綿糸について，4個のおもり（重さはそれぞれ 2 gr）を用いて，角周波数で 2.5～7.5 rad·sec^{-1} の範囲にわたつて求めた m, φ の変化曲線を示す。これらの曲線を使つて (2) から計算した X, Y の値は Fig. 3 のようになる。これから分るように ω のこの程度の変化の範囲内では X はほとんど一定であり，Y は ω と直角双曲線の関係にあると見なし得る。すなわち，綿糸に対しては Fig. 4 のような Voigt の模型をあてはめてよいと思われる。そこで四号綿糸の X, Y の実測値から Voigt の模型を仮定した場合の定数 G, η を計算すると $G = 20 \times 10^2\,\mathrm{gr\cdot cm^3\cdot sec^{-2}}$, $\eta = 28\,\mathrm{gr\cdot cm^3\cdot sec^{-1}}$ を得る。

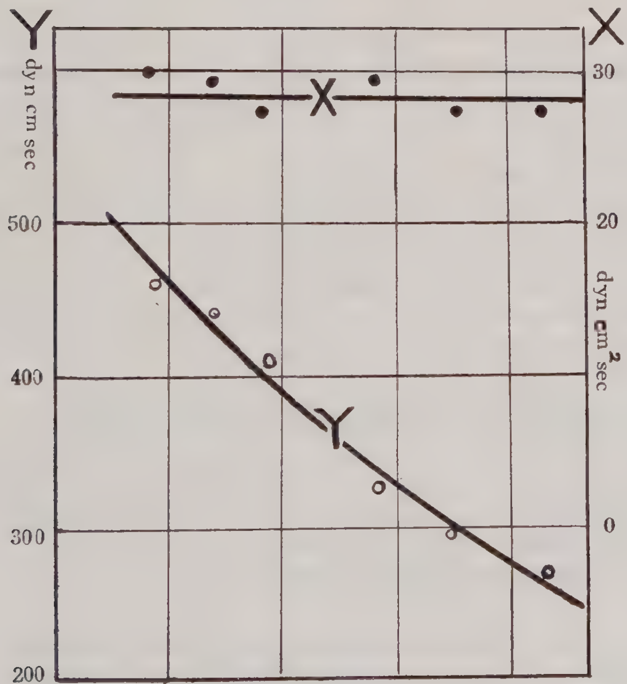


Fig. 3. Variations of X and Y with frequency for 4～20′ cotton cord.

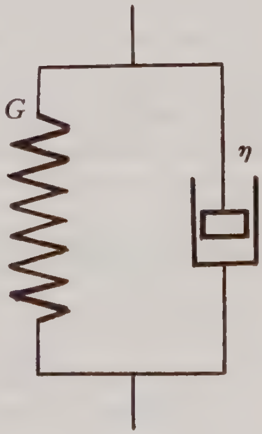


Fig. 4. $X = \eta$, $Y\omega = G$.

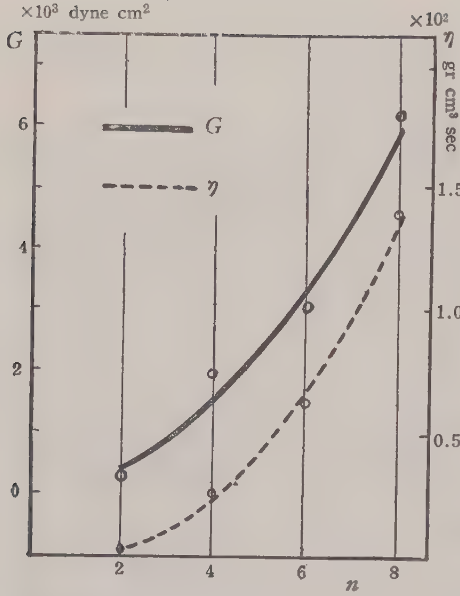


Fig. 5. Relations between G and η, and the number (n) of yarns composing each thread of the cotton cord.

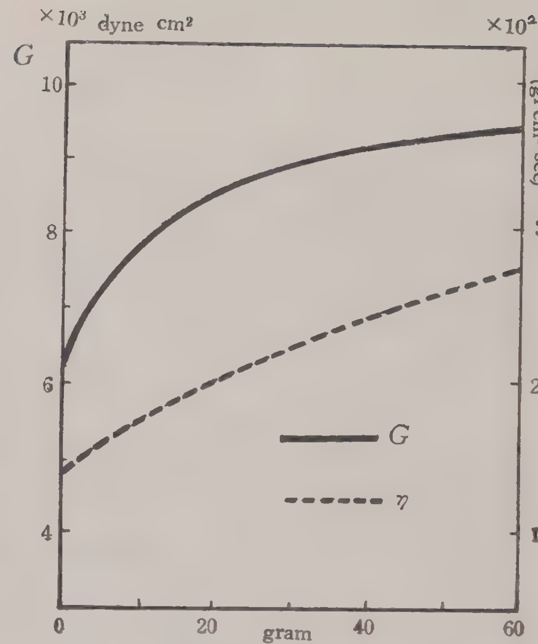


Fig. 6. The variations of G and η of the 8～20's cotton cord with tension.

綿糸に対して Voigt の模型をあてはめてよいことが分れば，上述のような複雑な操作を繰り返さないでも1個のおもりを用いて共振曲線を求めれば，G, η を計算することができる。この方法でまづ四号綿糸を濡らしたものについて測定すると $G = 24 \times 10^2\ \mathrm{gr \cdot cm^3 \cdot sec^{-2}}$, $\eta = 49\ \mathrm{gr \cdot cm^3 \cdot sec^{-1}}$ となり，乾燥している場合にくらべて G, η ともに増加している。

また綿糸の号数の変化による G, η の変化は Fig. 5 に示したようになる。

つぎに八号綿糸を用いて，おもりの重さを変えて G, η を測定した結果は Fig. 6 のようになり，おもりが重くなつて張力が増すと G, η ともに大きくなる。ただしはじめに述べたようにおもりを重くすると糸の回転が生じて実験不能となるから，あまり重いおもりに対しては測定ができない。

本実験における周波数の変化範囲は大きくないのでさらにひろげる必要があるが，それは将来の研究にまつことにする。

終りに本研究の御指導，ならびに御校閲を賜わつた東京大学理学部平田森三教授に深く感謝する。

文　　献

1) 安田秀明： 本誌，**6**，No. 6, 308 (1938).
2) J. R. Wazer, H. Goldberg: J. Applied Phys. **18**, 207 (1947)

金魚の索餌日周期と水温変曲点*

平 田 八 郎

(1960 年 5 月 12 日受理)

DIURNAL RHYTHM OF THE FEEDING ACTIVITY OF GOLDFISH WITH SPECIAL REFERENCE TO THE INFLECTION POINT OF TEMPERATURE CHANGES

Hachiro HIRATA**

1. The idea of the inflection point of water temperature, d^2T/dt^2 (here, T: temperature and t: time), was applied to an analysis on the correlation between the feeding activity of goldfish and the changes of water temperature, especially taking into consideration both the time factor in the biological clock of the fish and the stimulus of water temperature for fish feeding. The results thus obtained were compared with those obtained by the use of the average water temperature and the coefficient of water temperature variation respectively.

2. The experiments were carried out for five to seven consecutive days a month during the period from March 1957 to February 1958, at the greenhouse of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University. Feeding activity of the goldfish was recorded by an automatic feeding apparatus. For measuring the water temperature an automatic recording thermometer was used.

3. Feeding activity of the goldfish almost ceased under the condition of water temperature below 7 or 8°C. A plus correlation between the total daily feeding frequency and the average daily water temperature was clearly found so far as the water temperature ranged from about 9 to 25°C. However, even if in two consecutive days the average daily water temperature was almost the same, it was not rare that the feeding activities for the two days were found to be clearly different from each other; generally, more active feeding was recorded on a day when the coefficient of water temperature variation was larger. So, it is presumable that in such a case changes of the water temperature with high fluctuation accelerated the feeding activity as stimuli for the fish.

4. Throughout the present experiment, almost all of the daily feeding was found to be recorded at the time of the rising phase of water temperature, that is, the temperature showed the plus value in its changing rate (C°/Hr). In both the autumn and spring months, the maximum feeding frequency was often found to occur at just the time of the inflection point of water temperature. Especially, in late autumn as the water temperature fell, the peak of the feeding was found to correspond clearly with the time of the inflection point of water temperature. In the summer months, however, such a tendency was found to be very rare.

5. It seems that when the fishes were acclimatized to a relatively high temperature, the effect of change of the water temperature on fish feeding was rather inconspicuous, but when the fishes have adapted to the condition of low temperature such as in late autumn, they became more sensitive even to a slight change of the water temperature as a strong stimulus. Generally speaking, however, the peak of the fish feeding is found to occur at the time of the inflection point of water temperature. Such an idea of the inflection point may be applied also to any ecological and physiological studies.

金魚の索餌日周変化におよぼす環境要因の影響について，魚類の索餌自記器[1]を用いて調査しつつあるがその一部についてはすでに報告した[2)-5)]。それによれば，金魚の索餌活動におよぼす環境要因としては，日

* 本研究は小林新二郎教授に対する文部省科学研究費（各個）によるものである。

** 北海道大学水産学部 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

射量，水温，溶存酸素量などがその主要なものである。

本文では，これらの環境要因のうち特に水温をとりあげ，その変化と索餌との関係について検討を加えた。水温の時間的変化の表現法としては，水温変化度，すなわち，単位時間あたりの水温変化の割合を 1 つの刺激量として考えて，水温変曲点[6] の概念をとりあげ，そして索餌活動の日周性解析へのその適用を試みた。

本実験をおこなうにあたり，終始御懇切な御指導ならびに本文の御校閲を賜わつた北海道大学教授小林新二郎博士に対し深謝の意を表わすとともに，変曲点の概念について御助言を仰いだ北海道大学教授黒木敏郎博士に深く感謝する。また，資料の解析にあたり御指針を与えられた北海道大学小林喜一郎教授に厚く謝意を表する。さらに，本実験に御協力を頂いた北海道大学大学院学生西山恒夫君および学友桐生芳郎君に感謝する。

実験材料および方法

本実験に用いた索餌自記器はすでに報告した装置[1] を改良したものであり，その構造を模式的に示すと Fig. 1 のごとくである。魚が餌箱をつつくことによつて餌がこぼれ落ち，容易に索餌できるようにしたことや，取扱いを簡便にしたことなどが改良の主な点である。

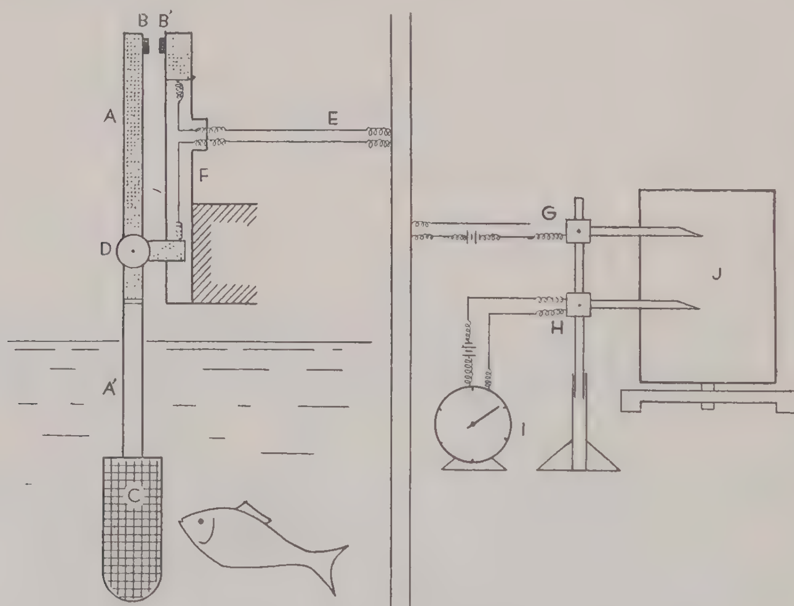


Fig. 1. Schematic view of the feeding recorder of fish.
A: Stalk of bait box B: Contacting point C: Bait box D: Fulcrum E: Lead wire F: Wooden supporter G～H: Electric magnets I: Time marker J: Kymograph.

索餌器の原理は振子時計とほぼ同じである。すなわち，餌箱 (C) の柄 (A, A′) の中心部に支点 (D) をとりつけ，その柄の上端は魚が餌箱をつつくことによつて，それと相対する支柱（F）と接触する。これら両方の接触部分には銀の接電点 (B, B′) をとりつけ，いわゆるスイッチと同じ作用をするようにしてある。支点のすぐ下に絶縁体をとりつけ，水中に電場ができないようにした。また，餌箱のとりはずしは支点でおこない，餌の交換は餌箱の上面でできるようになつている。餌としてはイサダを粉末にしたものを用い，この図でわかるように，餌箱の接電点側の一面には真ちゆう網（1 mm 目）をはりつけ，索餌するたびに箱内のその餌がこぼれ落ちるようにした。この索餌器の大きさは実験条件によつて種々考えられるが，本実験では餌箱の大きさは 2 × 4 × 6cm で，また，その柄の長さは 25cm のものを用いた。

記録器はすでに報告したもの[1] と同じで，24 時間巻きのキモグラフ（J）とレバーを制動する電磁石 (G) からなつている (Fig. 1)。すなわち，魚が索餌すると電流が流れ，このレバーによつてキモグラフに記録さ

れる。なお，索餌記録にあたつては，実験魚への影響を防ぐため，記録器は実験水槽より約 10m 離れた一室に装置するよう配慮した。

本実験は 1957 年 3 月から 1958 年 2 月にわたり，毎月 5〜7 日間継続して，北海道大学水産学部の温室でおこなつた。実験水槽としては，各 170 × 50 × 45cm の大きさの A, B, C の 3 水槽を同時に用いた。各水槽には，ほぼ同じ大きさの魚体を選んでそれぞれ 9 尾ずつ放養し，実験期間中，特に成長差の著しいものはとりかえたが，大体同一魚群で索餌記録を継続した。生後約 10 カ月の魚体で実験を開始し，その時および実験終了時の平均魚体重はそれぞれ 8.6g および 23.5g であつた。索餌器は A, B, C 各水槽の中央部にそれぞれ配置した。餌箱が空にならないよう，また，魚の "la mémoire de temps"[7] をさけるため，餌は 9 時間間隔で新しいものと交換した。

水温は自記器で記録し，その日変化を解析するため，平均水温や最高水温などのほかに，数学者の間でよく知られている変曲点，ならびに，統計学で使われている変動係数[8] をとりあげ，索餌活動の日周性へのその適用を試みた。水温の変動係数は毎時における水温の読取値 C° により $C = \sqrt{\sum (T_i - T)^2/n}\,/T$ で算出した。変曲点は一般に曲線 $T = f(t)$ において d^2T/dt^2 が正から負に，あるいは負から正に変化する点，すなわち，$d^2T/dt^2 = 0$ の点である。これは〔変化した温度/時間〕の二次微分の形であり，$\varDelta T/\varDelta t$ の極値である。したがつて，その単位時間，$\varDelta t$ はいうまでもなく瞬間的な値で表わさなければならない。しかし，こ

Table 1. Relation of the daily feeding frequency to both the average water temperature and the coefficient of temperature variation.

Date	Experimental tank A	B	C	Average Feed.	Average Temp.	Coef. Temp. Var.
Mar. 15	30	10	70	36.7	9.2	3.0 ○
16	90	150	60	100.0	9.1	3.9 ○
17	200	100	170	156.7	11.0	3.6
18	50	60	50	53.3	9.0	2.6 ○
19	340	100	200	213.3	9.3	3.8 ○
Apr. 18	560	610	735	653.0	12.0	4.2 ○
19	340	315	290	315.0	11.3	3.0 ○
20	510	565	570	548.3	13.2	5.3
21	300	195	305	266.7	12.8	4.0
22	75	80	115	90.0	12.0	3.8
23	600	120	330	350.0	14.5	6.3
May 24	360	395	415	390.0	16.2	6.0
25	710	637	450	599.0	17.1	6.7 ○
26	810	810	890	836.7	17.3	8.3 ○
27	650	732	641	674.3	17.6	7.0
28	922	687	620	743.0	18.4	7.2
29	878	880	764	840.7	19.7	8.4
30	760	715	605	693.3	19.0	8.1
Jun. 20	1005	980	1100	1028.3	23.0	9.2
21	965	873	1036	958.0	21.4	8.0
22	796	869	837	834.0	20.6	7.8
23	526	768	697	663.7	19.8	7.8
24	993	783	844	873.3	21.6	8.1
25	760	707	631	699.3	21.4	6.8
Jul. 15	1133	1314	1251	1232.7	25.4	9.5
16	937	733	1000	890.0	24.4	8.7
17	813	790	786	796.3	20.3	7.7
18	615	531	490	545.3	19.8	7.3
19	784	490	496	590.0	19.6	6.4
20	800	834	995	878.0	22.6	6.7
Aug. 10	1115	1306	1020	1147.0	25.0	7.0
11	1022	1107	1074	1067.7	23.6	6.1
12	968	775	590	777.7	23.4	6.3
13	420	990	877	762.3	24.6	6.0
14	667	789	810	755.3	25.0	6.2
15	795	790	944	843.0	24.3	7.0

Date	Experimental tank A	B	C	Average Feed.	Average Temp.	Coef. Temp. Var.
Sept. 16	900	605	736	747.0	18.4	6.1
17	746	617	611	658.0	17.4	6.1
18	535	610	594	579.7	17.4	5.7
19	376	463	491	443.3	16.1	5.2
20	236	331	256	274.3	15.0	5.0 ○
21	644	516	621	593.7	15.6	7.0 ○
Oct. 10	226	316	285	275.7	13.6	5.5
11	444	494	390	409.3	14.4	6.2
12	260	390	511	387.0	14.2	6.0 ○
13	177	245	215	212.3	14.0	5.1 ○
14	220	343	268	277.0	12.7	5.0
15	178	298	206	227.3	11.6	4.7
Nov. 3	96	56	59	70.3	11.9	2.8
4	104	113	139	118.7	12.3	3.2 ○
5	382	260	332	328.0	12.5	5.5 ○
6	174	212	274	220.0	12.3	4.1 ○
7	67	128	95	96.7	12.3	2.9 ○
Dec. 5	114	100	74	96.0	8.6	3.6 ○
6	36	27	22	28.3	8.4	2.1 ○
7	40	5	19	21.3	7.6	2.1
8	74	55	36	55.0	8.0	3.8
9	15	15	7	12.3	7.0	2.7
10	46	34	29	36.3	7.4	3.5
Jan. 18	0	0	0	0	4.0	1.0
19	0	0	0	0	4.7	1.3
20	5	5	0	3.3	6.6	2.3
21	6	5	20	10.0	7.1	2.4 ○
22	13	0	0	4.0	7.3	1.6 ○
Feb. 20	0	0	0	0	1.3	1.4
21	0	1	3	1.2	2.5	1.6
22	0	0	0	0	2.5	1.7
23	1	0	4	1.5	3.0	2.1
24	0	0	0	0	2.0	1.6

の考えを生物学的時間，特に日周性への適用という実際的見地から検討すると，1時間をその単位時間として算出してよいのではないかと思われる。それで本文では Fig. 3~6 に示したように，1時間あたりに変化した温度変化度 (C°/Hr) を毎時算出し，その各点を結んだ曲線の極値を水温変曲点とみなした。

結　　果

索餌日周期と水温変化度や水温変曲点との関係，また，索餌頻度と日内平均水温や水温変動係数との関係をそれぞれ調べてみた。とくに，時間的要因のみならず刺激性をも加味した水温変曲点と索餌日周期との関係については，その典形的な例のほか特殊な例をもとりあげ，両者を比較検討した。

Table 2. Feeding frequency per hour per day calculated from the data in each time section which was divided according to the rising or falling phase of water temperature.

		Hour		Feed. Fre./Hr./Day			Extreme value
		From	to	A	B	C	°C/Hr.
May	28	1	7	1.1	0.7	0.3	− 0.5
		8	17	87.0	89.7	92.3	+ 0.8
		18	24	11.9	9.6	7.4	− 0.3
〃	29	1	6	0	0	0	− 0.3
		7	17	80.0	75.0	74.6	+ 0.8
		18	24	20.0	25.0	25.4	− 0.4
Aug.	10	1	7	0.3	2.4	3.6	− 0.3
		8	17	65.6	70.0	57.3	+ 0.9
		18	24	34.1	27.6	39.1	− 0.3
〃	11	1	7	0.6	0.2	7.6	− 0.3
		8	17	71.4	74.3	69.1	+ 0.8
		18	24	28.0	25.6	23.3	− 0.3
Nov.	4	1	7	7.6	0	0	− 0.3
		8	15	84.8	88.5	91.4	+ 0.3
		16	24	7.6	11.5	8.6	− 0.1
〃	5	1	7	0	0	0	− 0.2
		8	16	91.4	100.0	83.1	+ 0.5
		17	24	8.6	0	16.9	− 0.4

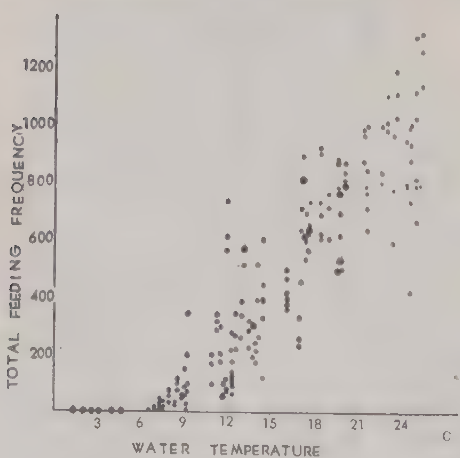


Fig. 2. Relation between the daily feeding frequency and average water temperature.

1. 索餌活動と日平均水温ならびに水温変動係数

1日における総索餌頻度と平均水温との関係を Fig. 2 および Table 1 に示した。特に，Table 1 には索餌頻度と水温変動係数との関係や，A，B，C 3コの水槽の繰返えし実験の結果をも示した。

金魚の索餌活動の低温限界は，すでに報告したように，8°C 前後で，それ以下では活動がほとんど停止している[2]。そして，水温が 8~9°C から 24~25°C の範囲内では Fig. 2 に示したように，索餌活動と平均水温との間に，ほぼ，直線的正の相関関係が示されている。しかし，本実験期間中，それより高い温度を示す場合はみられなかつたので，高温の索餌活動におよぼす影響については明らかでない。

しかし，日平均水温が大体同じ値を示していても，索餌頻度に差をもたらす場合が少なくなく，たとえば Table 1 の o-o 印のように，各両日の平均水温がほとんど同じ値であるにもかかわらず，索餌頻度には2倍近くもの差異がみとめられる。そこで，温度を平均水温としてではなくここに1日内の水温変動係数をとつて，索餌活動とそれとの相関を吟味すると，これら各両日における索餌頻度はその変動係数の増減と一致しており，上記の平均水温との場合よりもかなり高い相関関係がみられる ($r = +0.63$)。したがつて，たとえ日平均水温が継続的にほぼ同じ値を示しても，それら各日の水温変動係数に差があれば，その差の大きい日，すなわち水温刺激の大きい日の方が活発に索餌するといえよう。また，季節的にみれば，この傾向は春や秋の場合の方が著しく，夏ではほとんどみられない (Table 1)。

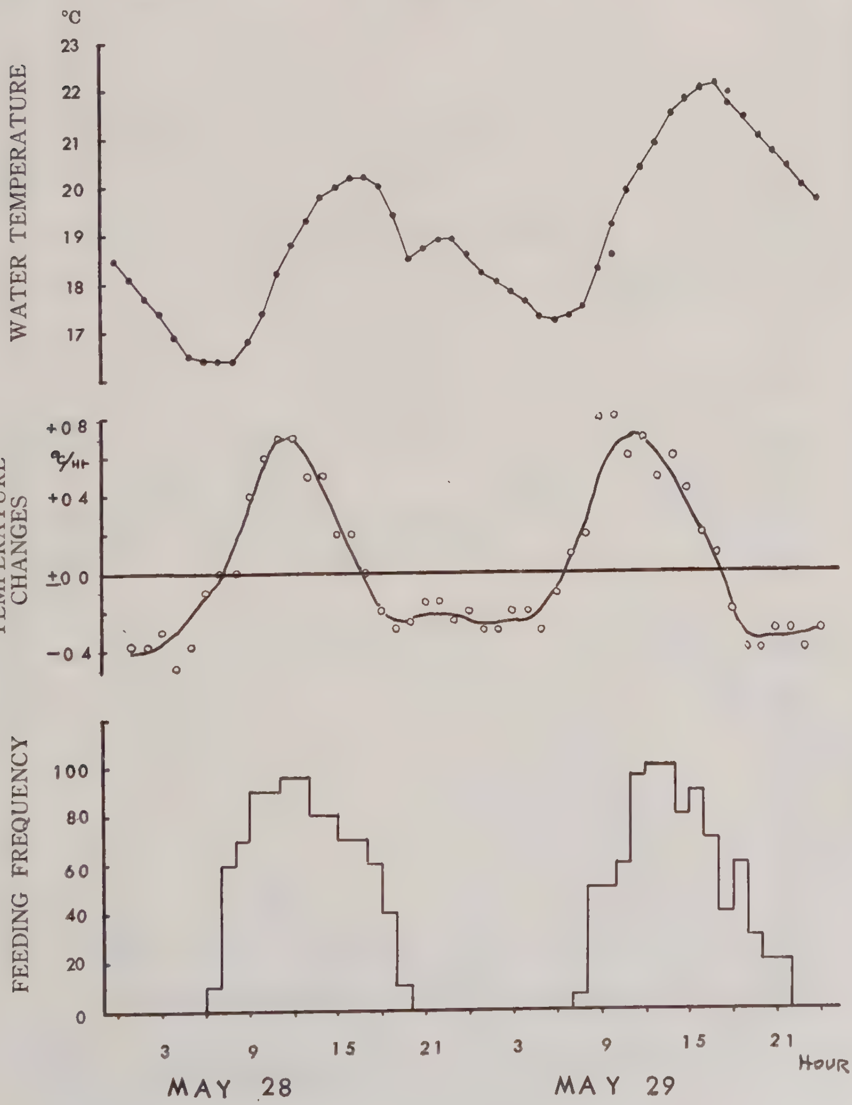
2. 索餌活動と水温変化度

日周性の関係を吟味するには時間的要因を考慮しなければならないが，以上述べた平均水温や水温変動係数，あるいは一般に考えられる最高・最低水温などでは水温の動的変化を知ることができない。そこで時間的要因を吟味するため，水温の上昇や下降を水温変化度の正あるいは負の符号によつて Table 2 に示した。

本実験期間における水温の日変化は1時から7時頃まで下降し，その後 17 時頃まで上昇し，再び 18 時頃から下降を示している。このような水温の3つの時間区分は，日照時数，日射量などによつて多少異なるが，それを水温変化度の符号で示すと，負－正－負となる。Table 2 に単位時間における索餌頻度とそれぞれの水温変化の方向の正負との関係を示した。なお，この表に示した6例は春，夏，秋の活発な索餌がみられる日の場合である。

繰返えし実験の A, B, C の3水槽を比較すると，それらの間に多少の相違がみられるが， いずれの実験例でも，水温変化度の符号が正の値を示している時，すなわち，水温が上昇している時に1日の大半の索餌頻度がみられる。ことに，低水温を示している 11 月 4・5 日の例ではこの傾向が著しく，その間における単位時間の索餌頻度率は 83～100% にもおよんでいる。一方，高水温を示している夏では， 8月10・11日のように，水温上昇時における索餌頻度率は低水温の季節よりも幾分低いけれども，単位時間あたり，70%

Fig. 3.



前後の率を示している (Table 2)。また，春や秋の場合は，夜間における索餌活動はほとんどみられないが夏季では 18 時頃から夜半にかけて単位時間あたり，約 20% 程度の索餌頻度がみられる。

3. 索餌活動と水温変曲点

水温変曲点は先に述べた水温変化度の考えに基づいて求めたものであり，水温変化の時間的要因はもちろんのこと，刺激量の極大という生理的な面をも加味されている。すなわち，24 時間における水温刺激量の最も大きい時刻が水温変曲点として示される。そこで，金魚の索餌日周変化と水温日変化ならびに水温変曲点との関係を各季節における実験例のうち，継続した 2・3 例をとりあげ，Fig. 3~6 に示した。

Fig. 4.

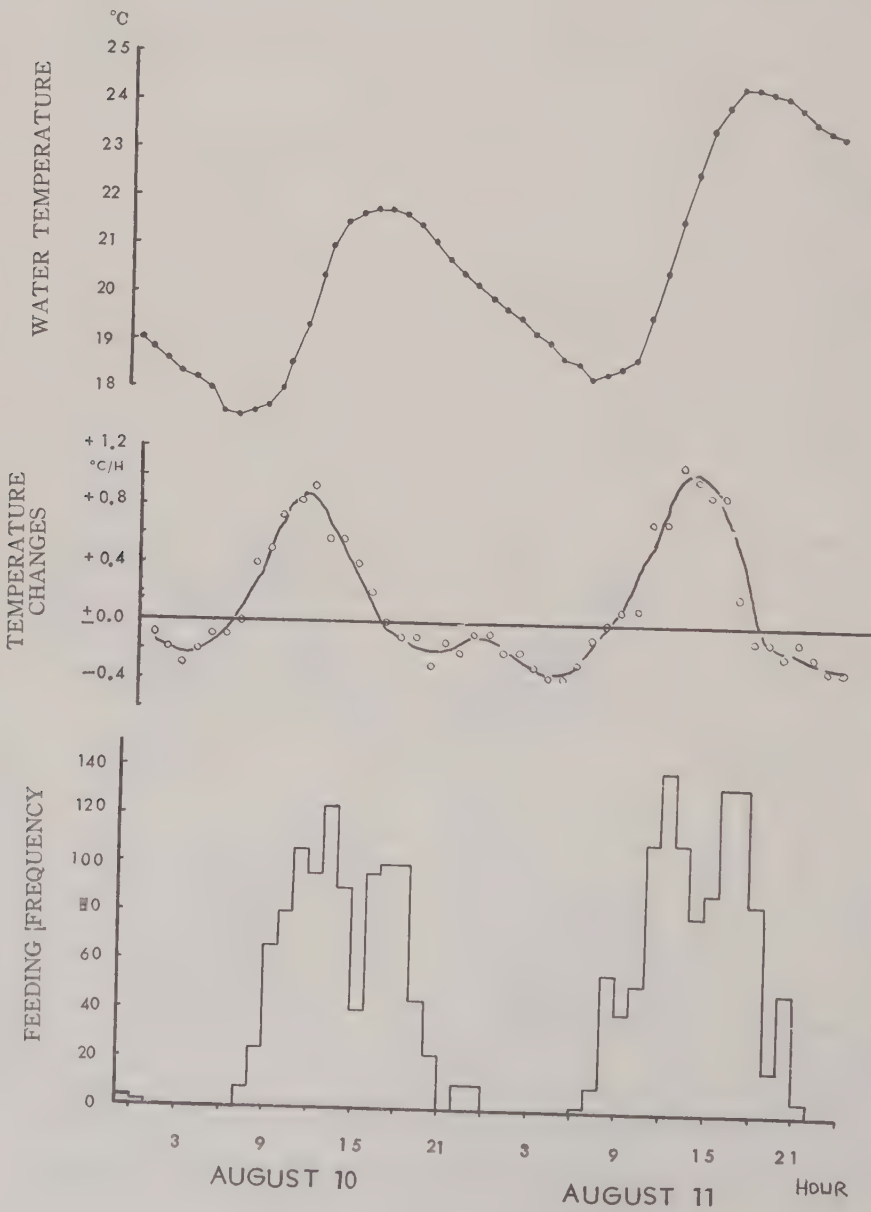


Fig. 5.

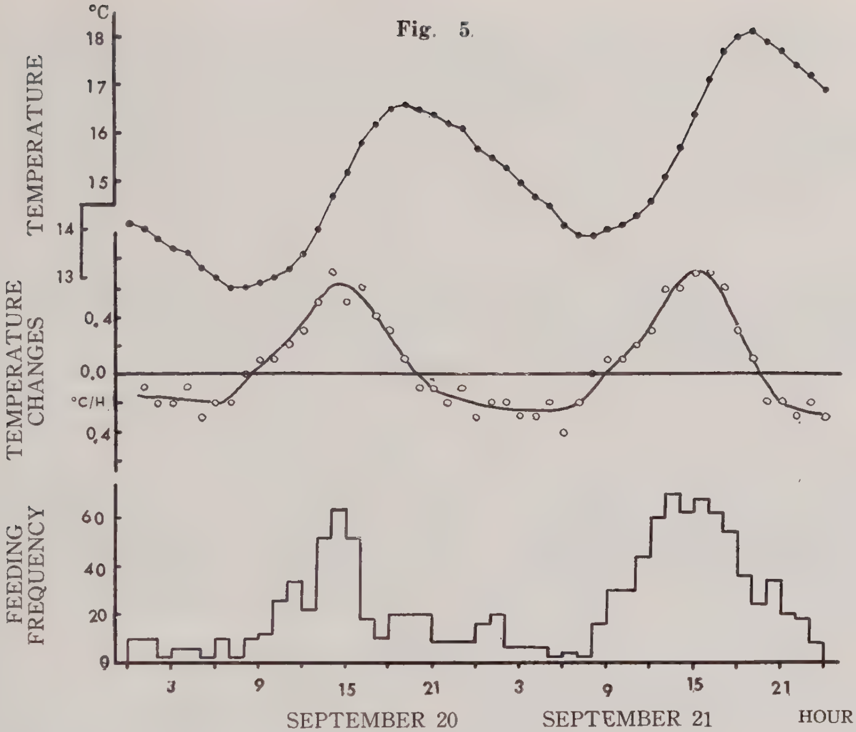


Fig. 6.

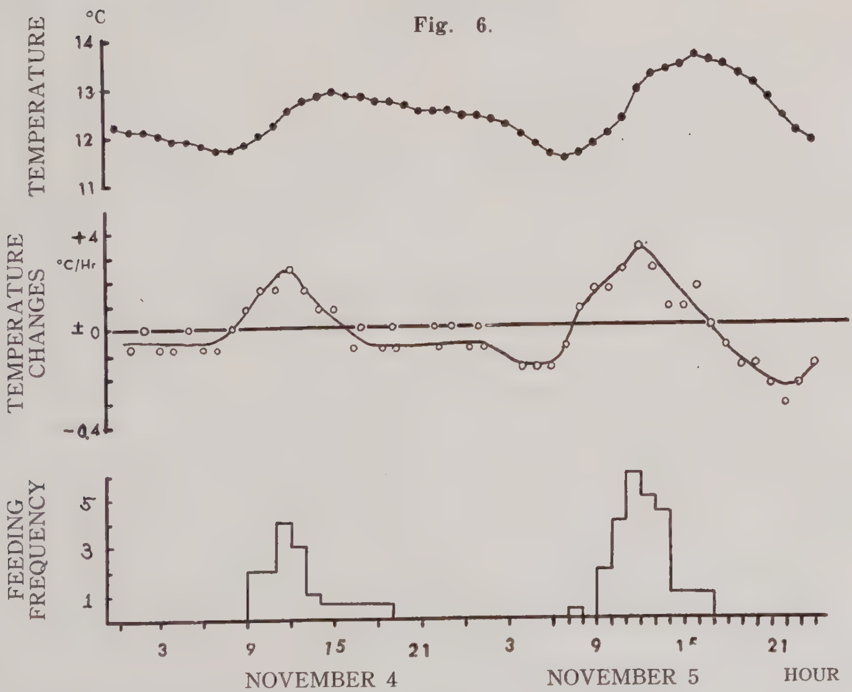


Fig. 3~6. Diurnal rhythm of the feeding activity of goldfish with special reference to the inflection point of temperature changes. The peak of the plotted line in the temperature changes corresponds to the inflection point.

これらの図を総体的にみると，索餌活動は水温の上昇につれて活発となり，下降とともに不活発になるといえよう。さらに，索餌頻度の最大を示す時刻と，先に述べた水温変曲点ならびに最高水温との相関をみると，春と秋との場合では，日によつて多少の相違はあるが，索餌頻度の最大は最高水温の時刻よりも，むしろ，水温変曲点の時刻に起るように見受けられる。しかし夏ではこの傾向を示したのは僅か18例中2・3例にすぎず，そのほとんどの例は特に明瞭な索餌のピークがみられず，また双峰形を示す場合もかなりみられた。

このようなことから，索餌日周変化と水温変曲点との関係は日平均水温が高温を示す時期よりも低温を示す時期の方が顕著にみられるといえよう。ことに，低温の季節の場合では，索餌頻度と水温変化度の大小とが一致しており，最高水温が示される時刻には，むしろ索餌がほとんどみられない例もあつた。なお，ここに示した例は A 水槽の場合であるが，他の B, C の水槽の場合でも，以上述べたような傾向がみとめられた。

考　　察

きわめて平凡な事実であるが，自然状態において生物をとりまく環境要因，たとえば光量や熱量などはたえず変化しており，その変化率は常に一定ではない。従来，この時々刻々における変化量はきわめて小さいため，動物がその変化に馴化するものと考えられ[9]，動物行動への刺激という見地からはほとんど追跡されていなかつた[10]。

このような動物行動の時間的要因を解析するには方法論的に幾多の困難性がともなつており，それを解消するためにはすぐれた実験装置と資料分析の糸口の発見とが先決問題である。本実験に用いた魚の索餌自記器はすでに報告した装置の記録上の不備な点を改良したので，少くとも室内で実験的に解析をおこなうには適当な装置と考えられる。また，今回，水温日変化の動的分析法として試みた水温変曲点の算出過程について検討すると，本来，変曲点は曲線の二次微分の形 d^2T/dt^2 で表わされ，その単位時間 Δt は瞬間的なものである。物理学者はこの Δt を1秒単位として算出する場合もあるが，本実験では実践的見地から1時間をその単位とした。ここに1秒と1時間とでは大差があるが，Fig. 3～6に示したように，水温変化度（C°/Hr）をプロットした曲線上における極値は容易に見出すことができる。このように1時間単位で求めた水温変化度でも，その極値を変曲点とみなしてよいのではないかと思われる。特に生物学的見地からは，水温変化度の曲線は水温刺激曲線とみなせるであろうし，また，それによつて判断される変曲点は，24時間における温度刺激の最大な時刻を示すものと考えられる。

なおまた，水温日変化の大小を表わすものとしては，上記のような水温変化度や変曲点のほかに水温の日内変化の変動係数[8]も考えられる。実験結果1で述べたように，1日の総索餌頻度と日平均水温とはほぼ直線的相関関係を示しているが，Table 1 に ○・○ 印で示した各両日の場合では，平均水温はほとんど同じ値を示していても1日の総索餌頻度に差異がみられる。これは，これら各両日の索餌頻度と水温変動係数との増減がほぼ一致していることから，水温変動係数，つまり水温刺激量の変化の割合の大小が索餌活動を左右するように思われる。この傾向は比較的低水温を示す季節の方が高水温を示す夏季よりも多くみられるので，金魚の索餌活動におよぼす水温刺激の影響は低温状態の方が強いものと考えられる。また，夏季では（たとえば，8月10日と11日），平均水温も変動係数も大差ないが，索餌頻度にかなりの変化がみられるので，水温の刺激量よりも他に索餌活動を左右する要因が考えられる。なお，本実験期間中，24～25°C で最も活発な索餌活動がみられたが，この点では FRY ら[11]が呼吸で調査した場合と同じような結果が得られた。

しかし，以上述べた日平均水温あるいは水温変動係数は水温変化の時間的要因が全く考慮されていないので，日周期性に対する十分な解析をほどこすことはできない。

そこで，索餌日周期活動と水温の動的様相を分析した水温変化度ならびにその変曲点との関係について考えると，夏季における実験例を除いて，1日の大半の索餌頻度は正の水温変化度を示す時間内にみられ，しかも，索餌頻度のピークは水温変曲点が示される頃とほぼ同時に起るといえよう。しかし，夏季ではこの傾

向がほとんどみられなかつた。また，春や秋では索餌日周期が単峰形であるのに対し，夏季，6・7・8 月では 18 例中 7 例が双峰形を示していた。このような周期形の相違については他に原因があるものと思われ，さらに検討しなければならないが，Fig. 4 でとりあげた 8 月 11 日の例のように，活発な索餌活動は水温変曲点と最高水温とが示される時刻の間にみられる。このような結果から，金魚の索餌日周期と水温日変動との関係はつぎのように季節によつて異なるものと考えられる。すなわち，魚が高温に馴化している時は索餌活動におよぼす水温変化度の影響が少ないが，その活動の低温限界に近づくにつれてその影響が強くなり，魚が低温に馴化している時の方が水温刺激の感受性が高いものと理解される。この点について，従来著者は，特に秋から初冬にかけて，また，冬から初春にかけて金魚の索餌活動は水温に大きく影響されることを述べ，さらに，その索餌日周期の面では，ほぼ最高水温に達する頃に索餌頻度のピークがみられると報告している[2]。しかし，本実験でこれらの関係を再吟味すると，先に述べたように水温変曲点という概念から解析するのが妥当であることがわかつた。

本文では，主として金魚の索餌活動の日周変化と水温変曲点との関係を吟味したが，この変曲点の概念はこのほか時々刻々変化する他の要因分析にも発展させることができるはずである。特に動物行動の日周性は時間的要因を中軸としているので，変曲点という考えに基づいて解析しなければならないと思われる。また刺激感受性や馴化能力などについては多くの研究者によつて論議されているが[12)-14)]，変曲点という考えもあわせて検討した方が望ましいものと思われる。すなわち，変曲点的解析をこの種の研究に導入することによつて，動物の様々な行動に対する刺激効果という生理生態学的概念が加味されてくるからである。

引 用 文 献

1) Kobayashi, S., Yuki, R. and Hirata, H.: Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ., **6**, 23 (1956).
2) Hirata, H. and Kobayashi, S.: Ibid., **7**, 72 (1956).
3) ——————: Ibid., **8**, 96 (1957).
4) Kobayashi, S. and Hirata, H.: Rep. 7th Meeting IPFC., 43 (1957).
5) 平田八郎： 水増産殖，**5**, 46 (1958).
6) 黒木敏郎： 私信.
7) Marx, C. et Kayser, C.: C. R. de la Soc. de Biol., **143**, 1375 (1949).
8) 小林新二郎，渡部哲光： 真珠の研究，技報堂，東京 (1959).
9) Brown, F. A.: Science, **130**, 1535 (1959).
10) 黒木敏郎： 鹿大水紀要，**3**, 19 (1954).
11) Fry, F. E. J. and Hart, J. S.: Biol. Bull., **94**, 66 (1948).
12) Brett, J. R.: Quart. Rev. Biol., **31**, 75 (1958).
13) Bull, H. O.: J. Mar. Biol. Ass., **21**, 1 (1936).
14) Sullivan, C. M.: J. Fish. Res. Bd. Canada, **11**, 153 (1954).

THE DEVELOPMENTAL STAGES OF NAUPLIUS LARVAE OF *PAREUCHAETA RUSSELLI* (FARRAN)*

Fumihiko KOGA**

(*Received May 26, 1960*)

The pelagic copepoda are small crustacean averaging in size less than five millimeters, whose abundance is a measure of their importance as a direct source of food supply for the young of the commercial fishes. Their nauplius larvae are so abundant that they play an important rôle in the economy of the sea. It is ardently necessary to study further on life history of the important species among the copepoda found in the waters surrounding Japan. But owing to the fact that the nauplius larvae are very small in size and differ in shape from that of adult, the nauplii have been remained for a long time untouched. The nauplius stages of *Euchaeta* have been described by CAMPBELL (1934)[1] and NICHOLLS (1934)[5]. The present paper deals with the larval development of *P. russelli* (FARRAN). The species (3.14–4.06 mm.) is one of large copepoda. FARRAN (1936)[2] described the species from the Great Barier Reef under the name *Euchaeta russelli* (GIESBRECHT). MORI (1936)[4] recorded the occurrence of *Euchaeata flava* GIESBRECHT from the neighbouring waters of Japan. But MORI's specimen is, as pointed out by TANAKA (1957)[6], identical with *Pareuchaeta russelli* (FARRAN). The species is common in the warm waters of Japan, and has been also recorded from Indian and Pacific Oceans.

The author wishes to thank Dr. O. TANAKA, the Director of the Fishery Research Laboratory of Kyushu University, for final critism and suggestions, Mr. S. SUEHIRO and Mr. T. SAWADA for laboratory facilities.

Materials and Methods

The adult female specimens of *P. russelli* were obtained from the region off Tsuyazaki, north-western Coast of Kyushu, where the warm Tsushima-current prevails, by vertical hauls of a Norpac-type plankton net designed for collecting macroplankton. The net is made of bolting silk GG 54 (mesh aperture approx. 0.33 mm.), the conical straining section measuring 180 cm. in lateral length, the mouth diameter is 45 cm.. *P. russelli* spawns in the north-western area of Kyushu from summer to early winter. The female carrying a egg-sac was immediately removed after gathering, and placed in the rearing jars filled with the water (Cl^-, 18.8‰). The temperature (16.6°C–17.8°C) of the jars was kept constant by running water surrounding the jars. As a

* Contribution from the Fishery Research Laboratory, Kyushu University.
** The Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyushu University.

food *Skeletonema costatum* (GREVILLE) was added in rearing jars, but there was no indication that the larvae fed upon it.

Egg and Breeding

The number of eggs produced by a female per brood ranged from 17 to 22, with an average of 19.9 eggs. The number of eggs produced under starved condition decreased to about 2–3 eggs per sac. MARSHALL and ORR (1955)[3] gave a full details of the effect of various kinds of food on spawning of *Calanus*. According to NICHOLLS (1934)[5] the number of eggs in one sac produced by *Euchaeta norvegica* BOECK was usually about 50. About a week after spawning the sac is thrown off and another batch may appear within 8 days.

The subspherical egg of *Pareuchaeta russelli* is 0.29 mm. in diameter. The egg of *Euchaeta norvegica* is according to NICHOLLS measured 0.4 mm. in diameter. The egg in the sac is bluish green in colour. As development proceeds the bluish green colour disappears. After 5–6 days, the abundant red oil-globules in the posterior region of the body give the embryo a reddish tinge. According to CAMPBELL (1934)[1] *Euchaeta japonica* MARUKAWA retains blue colour of eggs till the Nauplius I. The hatching usually occurs within several hours after sunset. As soon as the nauplii burst out they were removed from their parent which feed upon them.

Nauplius larvae

A large number of nauplii were reared in the laboratory in December, 1958. The Nauplius I which hatched out at 8 p.m. on December 5th, is 0.41 mm. in the average length. Within 10 hours the specimen moults and develops into the next stage; the Nauplius II which has an average length of 0.42 mm.. Succeeding moults follow one another at every intervals of approximate 12 hours. The Nauplius III measures 0.44 mm.; the Nauplius IV 0.48 mm.; the Nauplius V 0.52 mm.; and the Nauplius VI 0.57 mm..

Viewed ventrally the Nauplius I is broadly oval, and slightly pointed anteriorly and quite rounded posteriorly; there are no hairs on the posterior end. In the succeeding stages the body assumes a more elongate form; ovoid in the Nauplius III and pyriform in the Nauplius VI owing to elongation of the posterior half. The abdomen does not definitely differentiate from the thorax until quite late in the developmental stages of nauplius.

The nauplius larvae retained reddish tinge in the posterior region of the body by the reddish oil-globules of various sizes. A small eye-spot is present in all stages. The gnathobase is represented by a slight protuberance on the mandibular coxa as the nauplius is fed by the plentiful supply of yolk. A slight indication of the rostrum can first be seen in the Nauplius III, but in *Euchaeta norvegica* it first is seen in the Nauplius IV.

One pair of feelers appears on the posterior margin of the body in the Nauplius

II. The feelers are about as long as or a little longer than the body. They are kept until the Nauplius VI, in which another two pairs of short ones appear. The feelers

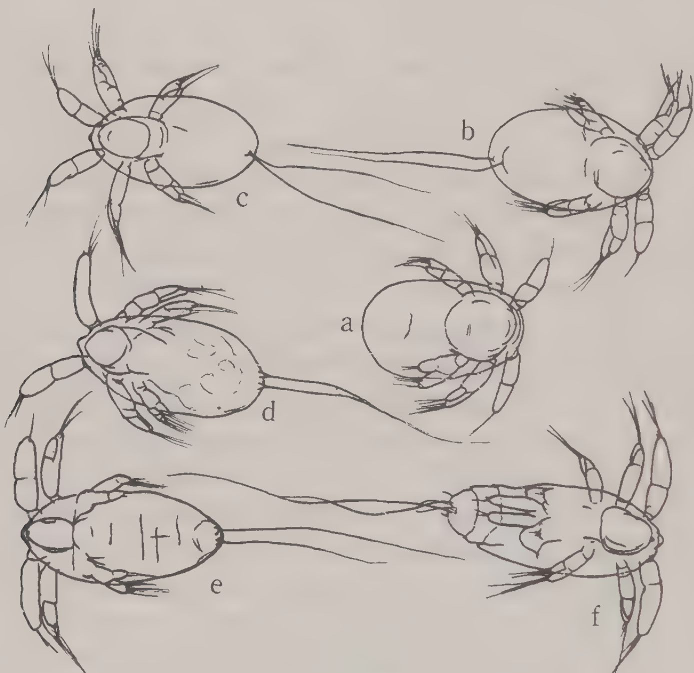


Fig. 1. Development of nauplius of *Pareuchaeta russelli* (FARRAN) a–f, nauplius stage I to VI, ventral view. (×50)

of *Euchaeta norvegica* and *Pareuchaeta russelli* are very similar in structure. The feelers of *Euchaeta japonica* appear in the Nauplius II, the another two short hairs appear also in this stage and persist to the Nauplius VI.

The nauplii have three pairs of cephalic appendages. These appendages are small in comparison with the size of the body. The labrum surrounded by these appendages is conspicuous when viewed from the ventral. The antennule (Fig. 2, a–f) is composed of three segments in each stage. The antenna (Fig. 2, g–l) consists of a coxa, basipodite, unsegmented endopodite and segmented exopodite; the coxa lacks armature. In the maxillule (Fig. 2, s) the inner lobe bears three short terminal setae and a number of setae on inner margin; the outer lobe of exopodite bears six setae. The maxilla (Fig. 2, t) is imperfectly divided into lobes, but it is difficult to distinguish the number of setae furnished on the lobes. The maxilliped (Fig. 2, u) is an elongated lobe with two large terminal setae. The first leg (Fig. 2, v) is not yet differentiated; there are three satae on each end of the endopodite and exopodite. The second leg (Fig. 2, w) is an appendage similar in shape to the first leg, the endopodite bears only two setae.

24–30 hours elapse before the final nauplius moults and develops into the Copepo-

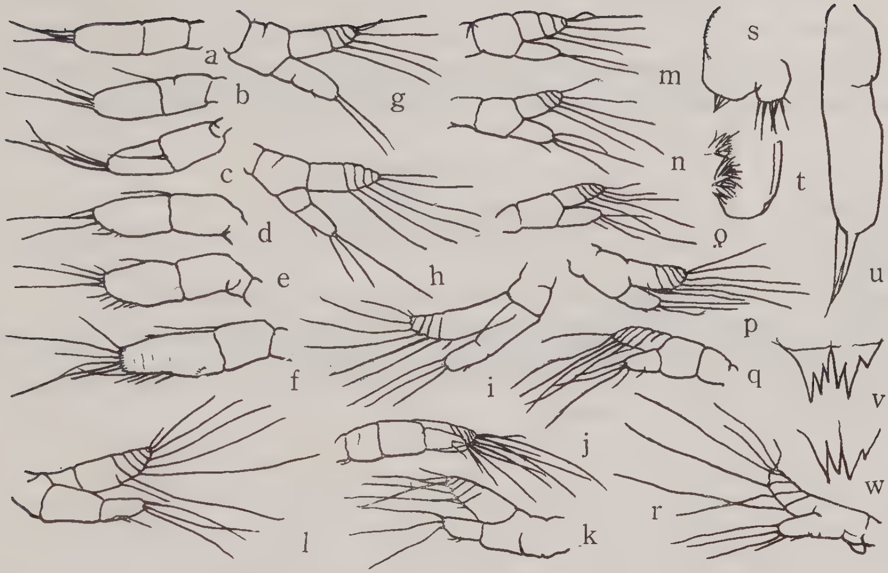


Fig. 2. Development of appendages of *Pareuchaeta russelli* (FARRAN)
a, g and m, nauplius stage–I antennule, antenna and mandible,
b, h and n, nauplius stage–II antennule, antenna and mandible,
c, i and o, nauplius stage–III antennule, antenna and mandible,
d, j and p, nauplius stage–IV antennule, antenna and mandible,
e, k and q, nauplius stage–V antennule, antenna and mandible,
f, l, r, s, t, u, v and w, nauplius stage–VI antennule, antenna, mandible, maxillule, maxilla, maxilliped, first leg and second leg.
a–r (×110), s–w (×230)

dite I, and this period appears to be the critical causing a striking change in the development of *P. russelli*: the animal increases in length by more than one and half the last nauplius. All of the cephalic appendages and two pairs of thorasic appendages are present. Almost all of the larvae survived to the Copepodite I.

Summary

1. *Pareuchaeta russelli* is one of the common species in the warm waters of Japan.

2. The eggs are carried in the egg-sac attached to the genital pore until they are hatched.

3. The subspherical egg of *P. russelli* is measured 0.29 mm. in diameter. The number of eggs in one sac is usually about 20. The sac is thrown off after spawning and within 8 days the next batch may appear.

4. The eggs in sac and in ovary are bright bluish green in colour, but the red oil-globules give the embryo a reddish tinge at time they emerge.

5. It appears that *P. russelli* passes through its nauplius stages without feeding, because it has the plentiful supply of yolk to pass through its nauplius stages.

6. There are six nauplius stages. The total durration of the nauplius stage was usually about 4 days.

7. 24–30 hours elapse before the final nauplius moults and develops into the Copepodite I, and this period appears to be most critical in the development.

References

1) CAMPBELL, M. H.: *J. Biol. Boad. Canada,* (1), 1-65 (1934).
2) FARRAN, G. P.: Copepoda. Greast Barrier Reef Expedition, 1928–29. *Sci. Repts.*, **5** (3), 73–142 (1936).
3) MARSHALL, S. M. and A. P. ORR,: Biology of a marine copepod. (1955).
4) MORI, T.: The pelagic copepoda from the neighbouring waters of Japan. (1936),
5) NICHOLLS. A.G.: *Proc. Roy. Soc.* Edinb. **54** pt. 1 (4), 31–55 1934).
6) TANAKA, O.: Zooplankton in the warm Tsushima-current. The pelagic copepoda in the Japan Sea—I. (1957). (in Japanese).

食品防腐剤に関する研究—I.

温度・pH 等の細菌発育阻害効果への影響

興 津 知 明

(1960 年 4 月 15 日受理)

STUDIES ON FOOD PRESERVATIVES—I.

INFLUENCE OF TEMPERATURE AND HYDROGEN ION CONCENTRATION UPON THE ACTION OF FOOD PRESERVATIVES.

Tomoaki OKITSU*

In Japan, 13 kinds of food preservatives are approved for use by Food Sanitation Law, of which nitrofurazone (NFS), nitrofuryl acrylic amide (NFA), sorbic acid and sodium sorbate are permitted for such fish products as "kamaboko" (fish cake), fish sausage and whale meat products. Recently, chlortetracycline (CTC)-ice was permitted as an aid in keeping the freshness of fish hauls by trawlers.

The purpose of this study was to investigate the effect of incubation temperature, pH value of the medium or the addition of glucose upon the inhibitory action of all of the 13 food preservatives, as well as CTC and oxytetracyline (OTC) upon some species of cocci and bacilli including spore bearing organisms. In addition, a possibility of preventing allergy-like food poisoning due to consumption of some kind of fish products was studied by the aid of such preservatives as nitrofurazone, CTC or OTC.

Results obtained may be summarized as follows:

1. NFA and NFS were found to have the highest antibacterial action among the legally approved food preservatives and methyl-naphthoquinone (MNQ) and *p*-hydroxy benzoic acid butyl-ester (POBB) were the next.

At pH 7.0 and 20°C, growth of *Pseudomonas fluorescens* was not inhibited by almost all of the preservatives. At the optimum growth condition, *Proteus morganii*, the causative organism of allergy-like food poisoning, was inhibited only by NFA within the legally permissible concentration.

2. Minimum growth inhibitory concentrations of some agents in a medium of pH 7.0 were determined at 24, 48, and 72 hours of incubation.

As for NFS and NFA, the values did not change markedly in 72 hours. On the other hand, with CTC or OTC, the values tended to become larger as incubation period proceeded, indicating the decomposition of the antibiotics.

3. The antibiotic activity of CTC or OTC in nutrient broth at pH 7.0 markedly decreased during incubation at 37°C, the tendency was more conspicuous with CTC.

4. No marked difference was observed in the minimal growth inhibitory concentration of the food preservatives in the broth by changing hydrogen ion concentration within a range of pH from 6.0 to 7.5, or by the addition of 1 per cent of glucose. However, in the case of CTC, the value varied markedly in response to pH of the growth medium.

* 埼玉県衛生研究所 (Saitama Pref. Hyg. Lab., Ômiya, Saitama Pref., Japan).

まえがき

現在，食品衛生法および同施行規則*により食品添加物として認められている食品防腐剤**には，水産食品以外の食品をも含めると，安息香酸，安息香酸ナトリウム，サリチル酸，ソルビン酸，ソルビン酸ナトリウム，デヒドロ醋酸，デヒドロ醋酸ナトリウム，パラオキシ安息香酸のエチル，ブチル，プロピル各エステル，メチルナフトキノン，ニトロフラゾーン，ニトロフリルアクリル酸アミド等があり，また最近***では抗生物質中クロルテトラサイクリンが，以西トロールおよび機船底曳漁業で，漁獲物中練製品の原料魚に限り，その保存用氷中に使用できることになつた。これらの食品防腐剤および抗生物質について，各種細菌に対する発育阻害効果は，すでに多方面にわたり検討されてきた。

一方，わが国においては，水産食品による食中毒は，年々全発生例の 60% を超えている。しかも，その原因物質については必ずしもすべて解明はされていない現状であるが，いわゆる腐敗中毒****の事例もきわめて多い。この中毒において，*Proteus morganii* がその原因細菌であることは，すでに河端[1]，相磯[2]らにより証明されている。そして水産食品における該菌の発育阻止は公衆衛生上大きな問題である。筆者はすでに[3]食品防腐剤の一部につき，その発育阻害形式および併用効果の検討を行つたが，本研究においては先ず食品防腐剤等の各種細菌に対する発育阻害効果を使用許可基準濃度を根拠として検討し，さらに培養温度，pH の変化および糖の添加が阻害効果におよぼす影響について検討したのでその結果について報告する。

実　　験

実験 1. 各種防腐剤の細菌に対する最小発育阻止濃度

1. 供試菌株

Pseudomonas fluorescens, B-4-4
B. subtilis, B-2-8
B. megatherium, B-1-12
M. pyogenes var. aureus, B-2-6
Proteus vulgaris, B-2-4
（以上東大応微研保管株）
M. pyogenes var. aureus, 209P
Proteus morganii, S-1 （昭和 30 年埼玉県川町における刺身中毒の際分離された菌[4]）
E. coli, O-1
E. coli, I 型菌 （下痢患者の糞便より分離。ヒスタミン産生菌）

2. 供試防腐剤および抗生物質

benzoic acid	試薬一級・昭和化学製
sodium benzoate	化学用・純正化学製
salicylic acid	試薬特級・純正化学製
sorbic acid	食品添加物・台糖製
sodium sorbate	試薬一級・東京化成製
dehydroacetic acid (DHA と略す。以下同じ)	食品添加物・台糖製
sodium dehydroacetate (DHA-S)	食品添加物・台糖製
nitrofurazone; 〔5 nitro-2 furfualdehyde semicarbazone〕 (NFS)	食品添加物・上野製薬製

* 昭和23年厚生省告示第54号において，法定防腐剤は使用しうる食品とその使用量が定められている。
** 食品衛生法でいう合成保存料の全部および合成殺菌料の一部。
*** 昭和 32 年 8 月 14 日 厚生省告示第 275 号。
**** アレルギー様食中毒。

5-nitro-2-furfrylacrylic amid (NFA)　食品添加物・上野製薬製
p-hydroxybenzoic acid, ethyl ester (POEB)　最純・和光純薬製
p-hydroxybenzoic acid, propyl ester (POPB)　最純・和光純薬製
p-hydroxybenzoic acid, butyl ester (POBB)　最純・和光純薬製
2-methyl-1, 4-naphthoquinone (MNQ)　和光純薬製
chlortetracycline・HCl (CTC)　日本レダリー製
oxytetracycline・HCl (OTC)　台糖ファイザー製

3. 実験方法

（1） 基礎培地： Difco 製 nutrient broth (pH 6.8) を pH 7.0 に修正して使用した。

（2） 試料の調製： 各防腐剤を所要濃度に蒸溜水にとかし，ザイツ型沪過器を用いて沪過滅菌し，これを nutrient broth に加えたものを原液として，以下 nutrient broth を用いて2倍稀釈を行つた。またその最高濃度で発育阻止を示さないものは，防腐剤を直接 nutrient broth にとかし，沪過滅菌して使用した。また CTC および OTC は蒸溜水にとかして沪過滅菌し，これを滅菌蒸溜水で稀釈し，その 1cc を nutrient broth 9cc に加えた。何れの場合も最終 pH が 7.0 になるように修正した。

（3） 培養方法： 予め3日間，nutrient broth に継代培養した供試菌の一白金耳量を，上記の方法により調製した broth 10cc に接種し，各菌の発育至適温度*に近い温度で実験的にとりうる温度（*Ps. fluorescens* は 20°C，*B. megatherium* は 30°C，その他の菌は 37°C）に培養し，CTC および OTC は 24 時間，その他は 72 時間後の混濁の有無を肉眼的に判定し，これより最小発育阻止濃度を算出した。

4. 実験結果

供試菌株について得られた各防腐剤および抗生物質の最小発育阻止濃度は Table 1 に示す通りである。すなわち，菌としては *Ps. fluorescens* が最も強く，多くの防腐剤はその飽和濃度に近い使用濃度においてもその発育を阻止できない。また防腐剤としては，NFA，NFS が比較的効果があり，MNQ，POBB がこれについだ。benzoic acid，salicylic acid，sorbic acid，sodium sorbate 等はほとんど発育阻害効果が認められなかつた。

また，37°C の培養と同時に 20°C（*Ps. fluorescens* は 37°C）の培養を行い，24 時間，48 時間および 72 時間における混濁の有無を観察し，これより各時間における最小発育阻止濃度を算出した結果の一部は Table 2 に示すごとくである。すなわち NFA，NFS 等の防腐剤においては，72 時間における最小発育阻止濃度は，24 時間のそれと変らないか，あるいは多くて2倍にすぎない。CTC および OTC においては菌により差はあるも，37°C 培養の場合，72 時間の最小発育阻止濃度は，24 時間のそれに比し非常に大きい。このことは別に行われた実験からも明らかなように，CTC および OTC が 37°C では nutrient broth 中で分解することが大きな原因であると考えられる。

実験 2. CTC および OTC の nutrient broth 中における分解

1. 実験方法

pH 6.0, 7.0, 8.0 に調製した nutrient broth 中に，CTC および OTC を 20ppm 含まれるように無菌的に添加して 37°C に放置し，0時間，24 時間，48 時間，72 時間の CTC および OTC を富山法[6] により測定した。

2. 実験結果

結果は Fig. 1 に示す通りであり，CTC および OTC はともに 24 時間で2分の1あるいはそれ以下に減少する。CTC は pH の高い範囲において殊に分解が著しく，24 時間後に pH 7.0 において 10 分の 1 に，pH 8.0 においては 100 分の 1 に減少する。また OTC は CTC に比し安定であるが，pH 7.0 において最も不安定である。

---

* Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed. (1957) による。

Table 1. Minimum Bacterial Growth Inhibitory Concentrations of Legally Approved Food Preservatives, CTC and OTC.

	Ps. fluor.	*E. coli* O-1	*E. coli* type I	*Pr. morg.*	*Pr. vulg.*	*B. subtilis*	*B. mega.*	*M. pyog.* B 2 6	*M. pyog.* 209P
	20°C	37°	37°	37°	37°	37°	30°	37°	37°
benzoic acid	$>1.0\times10^{-2}$M	$>1.0\times10^{-2}$M	$>1.0\times10^{-2}$M	$>5.0\times10^{-3}$M	$>5.0\times10^{-3}$M	$>5.0\times10^{-3}$M	$>5.0\times10^{-3}$M	$>5.0\times10^{-3}$M	$>5.0\times10^{-3}$M
sodium benzoate	2.0×10^{-1}	2.0×10^{-1}	2.0×10^{-1}	2.0×10^{-1}	1.0×10^{-1}	1.0×10^{-1}	1.0×10^{-1}	1.0×10^{-1}	2.0×10^{-1}
salicylic acid	$>6.6\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$	$>4.4\times10^{-3}$
sorbic acid	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>1.0\times10^{-2}$
sodium sorbate	$>2.0\times10^{-1}$	$>2.0\times10^{-1}$	$>2.0\times10^{-1}$	$>2.0\times10^{-1}$	$>2.0\times10^{-1}$	$>2.0\times10^{-1}$	1.0×10^{-1}	$>2.0\times10^{-1}$	2.5×10^{-2}
DHA	$>6.0\times10^{-3}$	6.0×10^{-3}	6.0×10^{-3}	6.0×10^{-3}	6.0×10^{-3}	4.0×10^{-3}	4.0×10^{-3}	6.0×10^{-3}	6.0×10^{-3}
DHA-S	1.0×10^{-1}	1.0×10^{-1}	1.0×10^{-1}	5.0×10^{-2}	5.0×10^{-2}	1.0×10^{-1}	5.0×10^{-2}	5.0×10^{-2}	1.0×10^{-1}
NFS	$>1.0\times10^{-3}$	6.3×10^{-5}	6.3×10^{-5}	2.5×10^{-4}	1.6×10^{-5}	3.1×10^{-5}	6.3×10^{-5}	3.1×10^{-5}	1.3×10^{-4}
NFA	$>1.5\times10^{-3}$	1.3×10^{-5}	2.5×10^{-5}	2.5×10^{-5}	6.3×10^{-6}	2.5×10^{-5}	5.0×10^{-5}	1.3×10^{-5}	5.0×10^{-5}
POEB	$>5.0\times10^{-2}$	1.3×10^{-2}	1.3×10^{-2}	5.0×10^{-3}	5.0×10^{-3}	1.3×10^{-2}	5.0×10^{-3}	1.3×10^{-3}	1.3×10^{-2}
POPB	1.0×10^{-2}	5.0×10^{-3}	5.0×10^{-3}	5.0×10^{-3}	2.5×10^{-3}	5.0×10^{-3}	2.5×10^{-3}	5.0×10^{-3}	5.0×10^{-3}
POBB	$>8.8\times10^{-4}$	$>8.8\times10^{-4}$	$>8.8\times10^{-4}$	$>8.8\times10^{-4}$	8.8×10^{-4}	8.8×10^{-4}	4.4×10^{-4}	4.4×10^{-4}	8.8×10^{-4}
MNQ	2.5×10^{-3}	1.3×10^{-3}	1.3×10^{-3}	1.3×10^{-3}	5.0×10^{-5}	5.0×10^{-5}	5.0×10^{-5}	5.0×10^{-5}	6.3×10^{-4}
CTC	2.5 ppm	0.62 ppm	0.8 ppm	2.5 ppm	0.31 ppm	<0.035 ppm	<0.025 ppm	≦0.15 ppm	0.2 ppm
OTC	2.5	0.62	1.75	0.62	0.15	≦0.07	0.075	≦0.07	0.3

Table 2. Effect of Incubation Period and Temperature upon the Minimum growth Inhibitory Concentration.

	Time / Temp.	NFS M 24 hrs.	NFS M 48 hrs.	NFS M 72 hrs.	NFA M 24 hrs.	NFA M 48 hrs.	NFA M 72 hrs.	CTC ppm 24 hrs.	CTC ppm 48 hrs.	CTC ppm 72 hrs.	OTC ppm 24 hrs.	OTC ppm 48 hrs.	OTC ppm 72 hrs.
Ps. fluorescens	37°C	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-3}$	5.0×10^{-4}	1.0×10^{-3}	1.0×10^{-3}	10	40	40	>20	>20	>20
	20°C	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-3}$	1.0×10^{-3}	1.5×10^{-3}	$>1.5\times10^{-3}$	2.5	5.0	>10.0	2.5	5	10
E. coli, O-1	37°	3.1×10^{-5}	6.3×10^{-5}	6.3×10^{-5}	7.8×10^{-6}	7.8×10^{-6}	7.8×10^{-6}	0.62	2.5	10	0.62	1.25	2.5
	20°	$\leqq7.8\times10^{-6}$	1.6×10^{-5}	1.6×10^{-5}	7.8×10^{-6}	7.8×10^{-6}	7.8×10^{-6}	≦0.31	≦0.31	≦0.31	≦0.31	≦0.31	0.62
Pr. morganii	37°	2.5×10^{-4}	2.5×10^{-4}	2.5×10^{-4}	2.5×10^{-5}	2.5×10^{-5}	2.5×10^{-5}	2.5	10	>40	0.62	2.5	10
	20°	1.3×10^{-4}	1.3×10^{-4}	1.3×10^{-4}	2.5×10^{-5}	2.5×10^{-5}	2.5×10^{-5}	0.62	1.25	1.25	0.62	0.62	0.62
Pr. vulgaris	37°	1.6×10^{-5}	1.6×10^{-5}	1.6×10^{-5}	3.9×10^{-6}	3.9×10^{-6}	7.8×10^{-6}	0.31	0.62	1.25	0.15	0.62	0.62
	20°	3.9×10^{-6}	7.8×10^{-6}	7.8×10^{-6}	3.1×10^{-6}	3.1×10^{-6}	3.1×10^{-6}	≦0.035	0.035	0.035	≦0.07	0.15	0.15
B. subtilis	37°	3.1×10^{-4}	3.1×10^{-4}	3.1×10^{-4}	3.1×10^{-5}	3.1×10^{-5}	6.3×10^{-5}	≦0.035	0.15	0.31	≦0.07	0.31	0.31
	20°	1.9×10^{-6}	3.9×10^{-6}	3.9×10^{-6}	1.6×10^{-6}	1.6×10^{-6}	1.6×10^{-6}	≦0.035	<0.035	≦0.035	≦0.035	≦0.035	≦0.035
M. pyogenes	37°	1.6×10^{-5}	3.1×10^{-4}	3.1×10^{-4}	7.8×10^{-6}	7.8×10^{-6}	1.6×10^{-5}	≦0.15	0.31	1.25	≦0.07	0.31	0.62
	20°	3.9×10^{-6}	7.8×10^{-6}	7.8×10^{-6}	1.6×10^{-6}	3.1×10^{-6}	3.1×10^{-6}	<0.15	<0.15	≦0.15	≦0.07	≦0.07	≦0.07

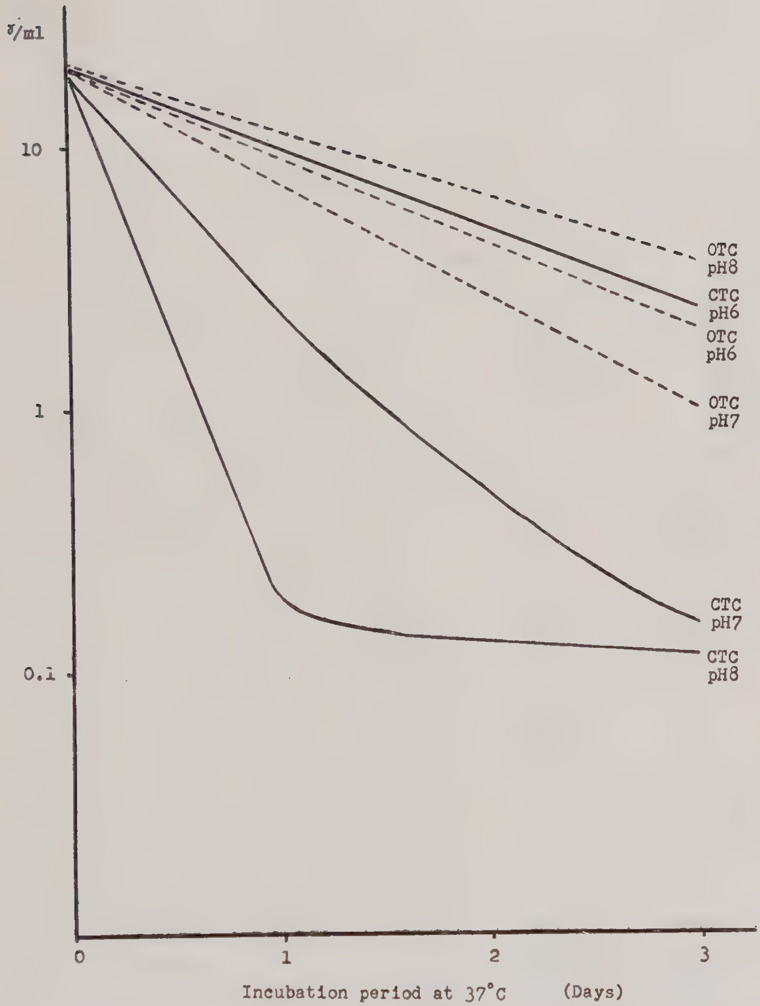


Fig. 1. Decomposition of CTC and OTC in Difco's Nutrient Broth at 37°C with the Initial Concentration of 20 ppm.

実験 3. 最小発育阻止濃度におよぼす培養温度の影響

1. 供試菌株

Ps. fluorescens, B-4-4

E. coli, O-1

Pr. morganii, S-1

Pr. vulgaris, B-2-4

B. subtilis, B-2-8

M. pyogenes var. aureus, B-2-6

2. 供試防腐剤および抗生物質

NFS

NFA

sorbic acid

sodium sorbate
CTC
OTC

3. 実 験 方 法

（1） 基礎培地： 実験1に同じ。

（2） 試料の調製： 実験1に同じ。

（3） 培養方法： ほぼ実験1に準じて行い，培養温度は 20°C, 30°C, 37°C において行つた。

4. 実 験 結 果

結果は Table 3 に示す通りである。すなわち *Ps. fluorescens* を除く供試菌については，NFS および NFA は，20°C においては 37°C における2分の1乃至4分の1の濃度で発育阻止を示している。しかしながら *Ps. fluorescens* については 37°C における方がやや強く発育阻止を示した。sorbic acid, sodium sorbate は前の実験と同じく発育阻害効果が認められなかつた。CTC および OTC においては，*Ps. fluorescens* を含む供試菌について，20°C における方が 37°C におけるより低濃度で発育阻止を示した。

Table 3. Effect of Incubation Temperature on the Minimum Growth Inhibitory Concentration.

	Incubation temp.	NFS M	NFA M	sorbic acid M	sodium sorbate M	CTC ppm	OTC ppm
Ps. fluorescens	37°C	$>1.0\times10^{-3}$	1.0×10^{-3}	$>1.0\times10^{-2}$	2.0×10^{-1}	10	2.5
	30°C	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.5\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	2.5	2.5
	20°C	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.5\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	2.5	2.5
E. coli, O-1	37°	6.3×10^{-5}	1.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	1.25	0.62
	30°	6.3×10^{-5}	1.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	0.62	≦0.31
	20°	1.6×10^{-5}	1.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.31	≦0.31
Pr. morganii	37°	2.5×10^{-4}	2.5×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	2.5	0.62
	30°	2.5×10^{-4}	5.0×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	1.25	0.62
	20°	1.3×10^{-4}	2.5×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	0.62	0.62
Pr. vulgaris	37°	1.6×10^{-5}	6.3×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	0.31	0.15
	30°	7.8×10^{-6}	6.3×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	0.15	≦0.07
	20°	7.8×10^{-6}	3.1×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.035	≦..07
B. subtilis	37°	3.1×10^{-5}	2.5×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.035	≦0.07
	30°	3.1×10^{-5}	6.3×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.035	≦0.035
	20°	7.8×10^{-6}	1.6×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.035	≦0.035
M. pyogenes	37°	3.1×10^{-5}	1.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.15	≦0.07
	30°	6.3×10^{-5}	1.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.15	≦0.07
	20°	7.8×10^{-6}	3.1×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	$>2.0\times10^{-1}$	≦0.15	≦0.07

実験 4. pH の変化および糖の添加が最小発育阻止濃度におよぼす影響

1. 供 試 菌 株

実験3に同じ。

2. 供試防腐剤および抗生物質

実験3に同じ。(sodium sorbate および OTC を除く)

3. 実 験 方 法

（1） 基礎培地： 実験1に同じ。

（2） 試料の調製： ほぼ実験1に準じて行い，ブドウ糖を 1% 添加したものおよびしないものにつき，試料の最終 pH が 6.0, 7.0, 7.5 になるように調製した。

（3） 培養方法： 実験1に同じ。

4. 実験結果

結果は Table 4 に示す通りである。sorbic acid は前の実験と同じく効果が認められなかつた。NFS, NFA においては，pH の変化および糖の添加によつて著しい影響は認められなかつた。CTC においてはアルカリ側で発育阻害効果が小さく，酸性側で大きい効果が認められた。

Table 4. Effect of pH Value of Growth Medium and Addition of 1 Per Cent Glucose upon the Minimum Growth Inhibitory Concentration.

Name of bacteria	pH	Glucose %	NFS M	NFA M	Sorbic acid M	CTC M
Ps. fluorescens	7.5	0	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.5\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-2}$	10
	〃	1	$>1.0\times10^{-3}$	1.5×10^{-3}	$>1.0\times10^{-2}$	
	7.0	0	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.5\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-2}$	4.0
	〃	1	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.5\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-2}$	
	6.0	0	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.5\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-2}$	1.6
	〃	1	$>1.0\times10^{-3}$	$>1.5\times10^{-3}$	$>1.0\times10^{-2}$	
E. coli, O-1	7.5	0	3.1×10^{-5}	1.3×10^{-4}	$>1.0\times10^{-2}$	5.0
	〃	1	6.3×10^{-5}	6.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	7.0	0	6.3×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	1.0
	〃	1	1.3×10^{-4}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	6.0	0	3.1×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	0.4
	〃	1	6.3×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
Pr. morganii	7.5	0	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	5.0
	〃	1	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	7.0	0	2.5×10^{-4}	2.5×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	2.0
	〃	1	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	6.0	0	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	0.8
	〃	1	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
Pr. vulgaris	7.5	0	1.6×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	〃	1	3.1×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	
	7.0	0	1.6×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	
	〃	1	1.6×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	
	6.0	0	3.1×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	
	〃	1	3.1×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	
B. subtilis	7.5	0	1.6×10^{-5}	6.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	〃	1	3.1×10^{-5}	6.3×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	7.0	0	3.1×10^{-5}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	〃	1	3.1×10^{-5}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	6.0	0	3.1×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	
	〃	1	3.1×10^{-5}	7.8×10^{-6}	$>1.0\times10^{-2}$	
M. pyogenes var aureus	7.5	0	3.1×10^{-5}	3.1×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	0.8
	〃	1	3.1×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	7.0	0	3.1×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	0.2
	〃	1	6.3×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	
	6.0	0	6.3×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	0.08
	〃	1	6.3×10^{-5}	1.6×10^{-5}	$>1.0\times10^{-2}$	

考　　　察

1. 防腐剤は種類によつて有効な菌と無効な菌があることが知られている。本報では水産物に比較的関係の深い菌を用いて実験を行つたのであるが，その結果 NFA, NFS が比較的効果があり，その他のものは法律で定められた使用濃度以下での発育阻害効果は低かつた。溶解度の点を考慮すると，比較的効果のあるデヒドロ醋酸，パラオキシ安息香酸ブチルエステル，メチルナフトキノン等は，法定濃度以上で，しかも使用しにくい濃度でないと発育阻害効果を示さない。メチルナフトキノンが蛋白質の存在下で効果が減少することはすでに知られたところである。実験1では pH 7.0 において行つたので，防腐剤の種類により解離が行われないために無効であると考えられるものがあり，この傾向は安息香酸等について特に顕著である。今

回の実験では主として水産食品に関係ある細菌に限定し，その発育可能 pH および水産食品の pH を考え，全体の実験をほぼ中性附近に限定した。魚肉腐敗細菌の代表的なものの1つとされている *Ps. fluorescens* に対しては，多くの防腐剤は 20°C では，使用可能濃度でほとんど発育を抑制しない。NFS が *Ps. fluorescens* に効果がない原因については，すでに天野[6] により明らかにされているところである。

アレルギー様食中毒原因菌の1つとして考えている *Proteus morganii* について，各防腐剤の最小発育阻止濃度と法定許可濃度を参考としてあげると Table 5 のごとくである。仮に g/kg = g/*l* とし，他の条件が完全に同一とした場合に，許可濃度で *Pr. morganii* の発育を阻止できるのは NFA のみであつた。

Table 5. Minimum Growth Inhibitory Concentrations of Food Preservatives for *Proteus morganii* and Each of the Legally Permissible Concentration.

Name of agents	Minimum growth inhibitory concentration*	Permissible concentration**	Kind of foodstuffs approved for use
benzoic acid	>0.61 g/*l*	0.6 g/kg	beverages (non-alcoholic)
sodium benzoate	29 〃	0.6 〃	〃 (〃)
salicylic acid	>0.62 〃	0.25 〃	"sake" and beverages
sorbic acid	>1.1 〃	2 〃	fish cakes including whale meat products
sodium sorbate	>27	2 〃	(fish cakes including whale meat products)
DHA	1.0 〃	2 〃	cheese and butter
DHA-S	10 〃	0.05 〃	beverages (non-alcoholic)
NFS	0.05 〃	0.005 〃	"kamaboko"
NFA	0.0046 〃	0.02 〃 0.001 〃	"kamaboko" dried fish products
POEB	0.83 〃	0.25 g/*l* (POEB, POPB, POBB)	soy sauce
POPB	0.18 〃	0.10 g/kg (POEB, POPB, POBB)	beverages (non-alcoholic)
POBB	>0.17 〃	0.012 g/kg (POEB, POPB, POBB)	coating material of fruits
MNQ	0.21 〃	0.1 〃 0.05 〃	"neriuni" (a paste of sea-urchin egg) tomato ketchup

Note: *; each drug was dissolved in the nutrient broth medium of pH 7.0, and the determination of minimum growth inhibition was carried out at 37°C for 72 hours incubation.

**; cited from the Enforcement Regulation of Food Sanitation Law.

防腐剤が細菌の発育に対し誘導期延長型として効くということは，すでに[3] 報告したところであるが，今回の実験のような最小発育阻止濃度の観察のみではその点は明らかにできない。すなわち，接種菌の濃度の変化に対して誘導期の延長が敏感であつて，24時間と72時間の観察を比較した場合，その最小発育阻止濃度は等しいか多くて2倍に過ぎない。CTC および OTC においてこの差が著しく大きいということは，主として抗生物質自身の分解が速やかに起るためであると考えられる。この事実は実験2より明らかであり，さらに 20°C で余り差がないという結果からも推定できよう。

2. CTC および OTC を nutrient broth 中にとかし 37°C に放置した場合，CTC は特に分解が著しく，pH 7.0 で 24 時間後力価は10分の1に，OTC も同じ条件で4分の1に減少した。CTC の分解は pH に対し特に密接な関係があり，中性においても分解は著しく，殊にアルカリ側で不安定であるのに対し，OTC は pH の変化よりむしろ温度の上昇に伴い分解が著しく促進される[7]。この事実から，CTC や OTC のような不安定な物質の最小発育阻止濃度を正確に測定することはかなり困難であるといわざるを得ない。本報では比較の意味で 24 時間の観察を行つた。

3. 防腐剤は作用温度がその効果に重要な関係がある。37°C，30°C，20°C の成績を比較した場合，*Ps. fluorescens* を除いた他の細菌では，何れも 20°C においては 37°C における最小発育阻止濃度より値が小さく2分の1乃至4分の1であつた。細菌の発育は至適温度で最良であることはいうまでもないが，今回の実験の範囲では供試菌は何れも各温度で 24 時間で混濁を示している。20°C 乃至 37°C の温度では用いた防腐剤はもちろん安定であるから，細菌の薬物に対する抵抗性は温度に関係があるものと考えられる。*Ps. fluorescens* においては 37°C におけるより 20°C における最小発育阻止濃度の値の方がやや大きい例があ

る。この事実はこの菌の至適温度が 20°C 乃至 25°C であることにより説明できる。CTC および OTC においては *Ps. fluorescens* を含む供試菌につき，何れも 37°C より 20°C の方が阻害効果があつた。これは上記のような発育温度による理由と，実験2に示されたような分解がその原因となつているものと考えられる。

一般に細菌は発育の至適温度で最大の抵抗性を有しており，したがつて防腐剤は効果が減少するという常識的な結果であるが，防腐剤の使用は原則的に低温と併用して始めて効果が期待できるものといえよう。

4. 防腐剤では今回の実験範囲である pH 6.0 乃至 7.5 の間では，解離差に基ずく最小発育阻止濃度に影響を与えていない。また 1% のブドウ糖の添加も特に顕著な影響を与えなかつた。CTC は他の防腐剤と異つて pH により著しく影響を受ける。特に中性よりアルカリ側に移るにつれ最小発育阻止濃度は大きくなる。その理由の1つには CTC のアルカリ側での不安定性が挙げられるが，pH 6.0 における破壊を考慮しても，なお酸性側でその抗菌力は強大である。

総　　括

水産食品の腐敗に関係の深い *Ps. fluorescens*，またアレルギー様食中毒原因菌である *Pr. morganii* およびその他の菌株（グラム陰性桿菌，グラム陽性球菌および芽胞形成菌）を用いて，各種食品防腐剤および抗生物質（CTC および OTC）について最小発育阻止濃度を調べ，pH の変化，培養温度，ブドウ糖添加等の影響を検討し，つぎのような結果を得た。

1. 法定防腐剤では NFA，NFS が最も効果があり，MNQ，POBB 等がこれについだ。*Ps. fluorescens* は多くの防腐剤ではこれを発育阻止できず，また *Pr. morganii* を法定許可濃度で発育阻止できるのは NFA のみであつた。供試菌の発育は CTC および OTC の 2.5 ppm 以下で抑制された。

一般に防腐剤の作用は誘導期延長型であるが，最小発育阻止濃度から見ると 24 時間と 72 時間の差はほとんど認められず，多くて2倍であるが，CTC および OTC は菌株により多少相違があるが，24 時間と 48 時間では約4倍の開きが見られた。

2. CTC は nutrient broth 中で 37°C，pH 7.0 において，24 時間後に 10 分の1に，pH 8.0 で 100 分の1に減少し，酸性よりアルカリ性において不安定である。OTC は CTC に比しかなり安定で，力価の減少は 24 時間で2分の1程度である。OTC は CTC ほど pH による影響を受けない。

3. 菌の発育至適温度では最小発育阻止濃度は最も価が大きくなつた。すなわち防腐剤の効果は細菌の発育至適条件で最少になつた。

4. 供試防腐剤は pH 6.0 乃至 7.5 の変化および 1% のブドウ糖の添加をしても最小発育阻止濃度に著しい影響は与えない。しかし CTC は pH 6.0 と 7.5 では 5～10 倍の開きが見られ，酸性側で最も阻止効果が大であつた。

本研究を行うに当り終始御懇篤なる御指導，御鞭撻をえた国立予防衛生研究所河端俊治先生に謹んで感謝の意を表する。また本実験を行うに当り OTC を提供された台糖ファイザー株式会社，CTC の提供その他実験遂行上援助を与えられた日本レダリー株式会社に謝意を表わす。

文　　献

1) 河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚： 本誌，**22**，41 (1956).
2) 相磯和嘉・柳沢文徳： 日本医事新報，No. 1625，31 (1955).
3) 興津知明・山田金次郎： 本誌，**20**，1010 (1955).
4) 河島俊一・渡辺昭宣・湯沢信治・関口軍治： 埼玉県衛生研究所報，No. 1，73 (1957).
5) 富山哲夫・津田　厚・米　康夫： 本誌，**24**，289 (1958).
6) 天野慶之： 本誌，**18**，67 (1952).
7) 河端俊治・阪口玄二・中村友光子・赤野多恵子： J. Antibiotics, in press.

水産動物肉に関する研究—XXVIII.
魚類筋肉の蛋白組成*

志 水 寛・清 水 亘

(1960 年 4 月 16 日受理)

STUDIES ON MUSCLE OF AQUATIC ANIMALS—XXVIII. PROTEIN COMPOSITION OF FISH MUSCLE

Yutaka SHIMIZU and Wataru SIMIDU**

The protein composition of fresh fish muscles has been investigated of eight species of teleosts and one species of elasmobranchs. The procedures for extraction and fractionation used are given in Fig. 1 and the results obtained are summarized as follows:

(1) Values for sarcoplasmic, fibrilar and stroma fractions for different species within teleosts are quite similar: sarcoplasmic fraction comprises some 20～30 per cent of total proteins, fibrilar proteins some 60～70 per cent and stroma about 3 per cent.

(2) Values for the stroma of teleosts are of interest, since they are considerably lower than those observed for elasmobranchs and rabbit. This suggests that the difference between these muscles in the stiffness may depend upon the amount of stroma.

(3) Accompanying the post-mortem aging of the fish muscles, the fibrilar protein (myosins soluble in salt) readily become insoluble and move into the residual intracellular fraction, while the sarcoplasmic proteins (non-myosins) suffer no change in their solubilization properties. Thus, lowered values for the total extractable proteins observed in aged muscles are mainly attributable to decreased levels of the myosins.

(4) The rate of denaturation of myosins in muscle during the cold storage seems to vary to a great extent with the fish species.

魚肉の性質，とくに肉組織のしまり工合や，すり身のゲル形成能は，魚の種類によつていちじるしい差異がある。これは，水，蛋白，油脂，炭水化物，エキス成分，無機物等，魚肉を構成しているあらゆる成分が関係しているのであろうが，その中でも筋肉蛋白の組成ならびに含有量がもつとも大きい役割を演じていることは容易に想像できる。

これまで筋肉蛋白の研究に供された魚はその種類が割合限られており，cod，haddock，carp，flat fish 等数種にすぎず[1]，その蛋白組成の魚種についての比較研究はなかつた。最近，三宅ら[2]は上述のような原料学的観点から，Dyer 法を用い多種類の魚類筋肉中の可溶性ミオシン区蛋白を定量して魚種間に顕著な差異を見出し，それによつて魚肉のかまぼこ形成能の魚種による相違を説明した。しかし，同氏らの用いた試料魚はその鮮度が不揃いであるために，その結果は必ずしも魚に固有のものとはいえないかもしれない。

著者らは，この点を考慮して活魚または死後硬直以前の状態にある魚を入手し，その筋肉蛋白を4つの区分にわかち，それらを魚種ならびに鮮度の面から検討した。

実 験 方 法

試 料 試料魚は舞鶴近海で漁獲され舞鶴漁港に水揚げされたものの中から，活魚または死後硬直前の

* 1958 年 10 月 13 日，日本水産学会大会において講演した。

** 京都大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

魚を選び，直殺ののち氷詰めにして研究室に持ち帰つた。分析に供した魚種はつぎのとおりである。

チ ダ イ (Red porgy) *Evynnis japonica* Tanaka,
クロダイ (Black porgy) *Sparus longispinis* (Temminck & Schlegel),
ミシマオコゼ (Stargazers) *Uranoscopus japonicus* Houttuyn,
マ エ ソ (Lizard fish) *Saurida argyrophanes* Richardson,
カ マ ス (Barracudas) *Sphyraena pinguis* Gunther,
ハマトビウオ (Flying fish) *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* (Franz),
ブ リ (Yellowtails) *Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel,
サ バ (Mackerel) *Scomber japonicus* Houttuyn,
ホシザメ (Spotted shark) *Galeorhinus manazo* (Blecker).

蛋白の抽出と分離　著者らが採用した方法は，やや濃厚な塩溶液，ごく稀薄な塩溶液および稀薄なアルカリ溶液に対する組成蛋白の溶解性の差を利用して，それらを筋原繊維の蛋白，筋原質の蛋白，細胞内残渣の蛋白およびストロマの蛋白の4区分に分別定量しようとするもので，その概要を Fig. 1 に示した。蛋白の抽出分別操作はすべて冷蔵室 (4°C) 内で行い，溶液はあらかじめ氷冷して用いた。ここで得られる筋原繊維蛋白区分にはミオシン区蛋白が，筋原質蛋白区分にはミオゲン，グロブリン X 等いわゆる水溶性蛋白が，細胞内残渣蛋白区分には前二者の変性蛋白が，またストロマ蛋白区分にはコラーゲン等硬蛋白が主として含まれると考えられる。

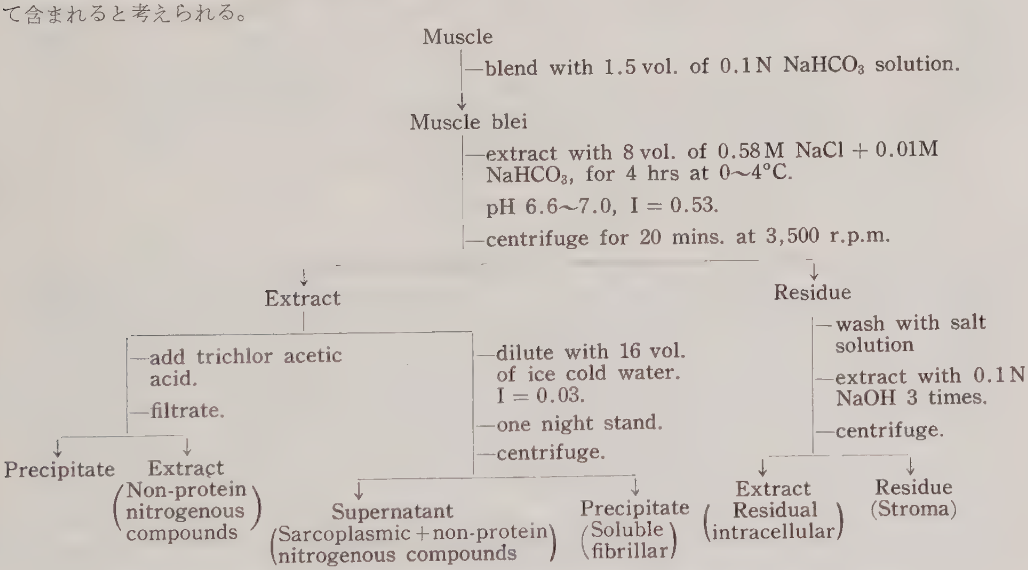


Fig. 1. Scheme for extraction and fractionation of proteins in fish muscle.

結果ならびに考察

著者らがとりあげた9種類の魚の筋肉中の水分，全窒素，非蛋白態窒素，蛋白窒素および全蛋白に対する4つの蛋白区分の占める割合を Table 1 に示した。これによれば，サメを除くと全蛋白に対する可溶性蛋白の割合は魚種によつてあまり差がなく (91~97%)，また筋原質蛋白，筋原繊維蛋白，ストロマ蛋白等の占める割合にも大差がない。ホシザメにおいては，ストロマの区分が硬骨魚のそれに比していちじるしく多く，このために可溶性蛋白の区分が少なくなつているが，Bailey のガンギエイについての研究でも同様の結果が得られており，このことは板鰓類の生理，生態学的特徴と何らかの関係があるのかもしれない。さらに，ここにあげた4つの蛋白区分を硬骨魚，板鰓類，およびウサギについて比較すると，それらの間には明瞭な差がある。とくにストロマ含量のいちじるしい差はその肉質の強靱性との関連を示唆しているようにみえる。

Table 1. Content and partition of protein nitrogen in fish muscle.

Muscle	Moisture	Total Nitrogen	Non-Protein Nitrogen	Protein Nitrogen	Protein N as % Total Coagulable N: Soluble in salt: Sarcoplasmic	Soluble in salt: Myofibrillar	Residual intracellular	Stroma
	%	mg/g	mg/g	mg/g				
Red porgy	77.4	33.4	4.2	29.2	31	66	1	2
Black porgy	80.8	28.9	3.9	25.0	30	62	4	4
Stargazers	82.4	26.6	3.6	23.0	20	71	—	—
Lizard fish	77.5	33.6	4.0	29.6	28	66	—	—
Barracudas	74.6	31.1	3.9	27.2	31	65	2	3
Flying fish	75.6	37.0	5.4	31.6	29	68	1	2
Yellowtails	74.5	37.9	6.1	31.8	32	60	5	3
Mackerel	71.6	35.5	5.9	30.6	30	67	1	2
Spotted shark	77.6	37.8	13.4	24.4	21	64	7	9
Haddock[a)]					30	67	—	3
Cod[b)]					21	70	6	3
Carp[c)]					23~25	70~72	—	5
Flat fish[c)]					18~24	73~79	—	3
Ray[d)]					26	64	—	10
Rabbit[e)]					28	52 {Myosin 38, Actin 14}	4	16

a) Reay, Küchel: Dept. Sci. Ind. Res. Rept. Food Invest. Bd., **93**, 1937 (1956).
b) Dyer, et al.: J. Fish. Res. Bd. Can., **7**, 585 (1950).
c) Matsumoto: Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., No. **20**, 65 (1958).
d) Bailey: Biochem. J., **33**, 255 (1937).
e) Hasselbach, Schneider: Biochem. Z., **321**, 461 (1951).

これらの結果および，これまでに他の著者の得た結果を綜合すると，板鰓類にとくに多いストロマは例外として，魚肉の蛋白は 60～70% の筋原繊維蛋白（ミオシン区蛋白），20～30% の筋原質蛋白（水溶性蛋白）および約 3% のストロマから成り，魚種による差は大きくないといえる。

著者らも，三宅らの示唆にもとずき，すくなくとも，いわゆる赤身魚種と白身魚種とではそのゲル形成能に大きな差があることから，それらの間の蛋白組成の相違を期待したのであつたが，この推測は当らなかつた。同氏らのみた可溶性ミオシン区蛋白量のいちじるしい差異は，その試料の鮮度が同一でなかつたことと，魚種によつてミオシン区蛋白の不溶性化の速度が異なることに由来しているのではなかろうか。

これを確めるために，トビウオ，サバ，チダイ，ミシマオコゼを 7 日間氷蔵し，その前後の蛋白組成の変化を調べてみた。Table 2 はその結果を示す。筋原質の蛋白はこの期間の氷蔵中ほとんどその溶解性を失つ

Table 2. Partition of proteins in fresh and aged muscle (as per cent of total coagulable nitrogen)

	Flying fish: before rigor-mortis	Flying fish: stored*	Mackerel: alive	Mackerel: stored*	Red porgy: before rigor-mortis	Red porgy: stored*	Stargazers: before rigor-mortis	Stargazers: stored*
Soluble in salt: Sarcoplasmic	30	29	30	30	31	29	20	20
Soluble in salt: Myofibrillar	67	60	67	37	66	59	71	59
Residual intracellular	2	9	1	30	1	9	—	—
Stroma	2	3	2	3	2	3	—	—

* Storage for 7 days with ice.

ていないにもかかわらず，筋原繊維蛋白の区分では不溶性化がいちじるしい。これは，いろいろの条件下におかれた魚肉について，これまでに報告された結果[3)–6)]とよく一致しており，ミオシン区蛋白の区分が水溶性蛋白区分に比してはるかに不安定で変性しやすいことを示している。また，ミオシン区蛋白の変性速度が魚種によつてそうとう大幅に異るであろうことは，7日間の氷蔵によつてチダイ，トビウオ等における10～15% にくらべてサバではほとんど半ばが不溶性化していることから明らかであつて，それらはそのまま稀薄アルカリ可溶性の細胞内残渣蛋白の区分に移行している。

ミオシン区蛋白の変性速度が魚種によつて異なるということは，ひじように興味ある問題であるが，魚肉の凍結貯蔵のさいにもこのことは知られている。その理由として，DYER ら[7)]は筋肉中の油脂含有量の多少が関係するといい，清水ら[8)]は筋肉組織の硬さが影響すると述べているが，これらは単なる推測の域を出ず今後筋肉組織内の蛋白変性要因に関する詳細な研究が望まれる。

以上の結果から，すくなくとも死後硬直前の新鮮な魚肉の蛋白組成は魚種によつて大差がないが，硬直期以後の鮮度の低下にともなうミオシン区蛋白の変性速度は魚種によつて異なることが判明した。したがつて魚肉のかまぼこ形成能の強弱を可溶性ミオシン区蛋白の量だけから説明するには多少の無理があるようで，著者らの経験でもこの区分の溶出量と，かまぼこ形成能とが一致しない例がかなりみられる。かまぼこ形成能がミオシン区蛋白（大部分がアクトミオシンと考えられる）に負うことは疑を入れないが，魚種によるその強弱はアクトミオシンの量的な変動によるだけではなくて，その質的組成にも強く影響をうけるものと考えられる。すなわち，アクトミオシンはミオシンとアクチンの化学量論的結合物ではなく，それらの結合割合は任意であることが明らかにされており[9)]，さらに魚肉の塩類抽出液中におけるミオシン，アクチン，アクトミオシンの相互関係が魚種，鮮度等によつて微妙に変化することが最近の研究[10),11)]によつて明らかになりつつある。したがつて，魚肉のかまぼこ形成能をその蛋白組成に結びつけるばあい，ここでとりあげた各区分をさらに細かく検討することが必要となるであろう。

要　　約

1. 9種類の新鮮な魚肉の蛋白組成をしらべてつぎの結果を得た。(i) 魚肉を構成する蛋白は 20～30% の筋原質蛋白（水溶性），60～70% の筋原繊維の蛋白（ミオシン区），約 3% のストロマの蛋白から成り，この組成は魚種によつてあまり変らない。(ii) サメ類の筋肉は硬骨魚のそれと異なり，ストロマの量がいちじるしく多く，全蛋白の約 10% に達する。

2. 鮮度低下にともなう筋肉蛋白の不溶性化は，筋原繊維蛋白の区分にいちじるしく，筋原質蛋白区分には顕著でない。

3. 魚肉の鮮度低下によるミオシン区蛋白の変性の速度は魚種によつて異なる。

文　　献

1) HAMOIR, G: *Adv. Protein Chem.*, **10**, 227 (1955).
2) 三宅正人・林孝市郎： 本誌，**22**，48 (1956).
3) SHIMIZU, Y. and SIMIDU, W.: *Mem. Coll. Agr. Kyoto Univ.*, **Fisheries Series**, 68 (1958).
4) SNOW, J. M.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **7**, 599 (1950).
5) DUERR, J. D. and DYER, W. J.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **8**, 325 (1952).
6) 右田正男・松本重一郎・最首とみ子： 本誌，**22**，433 (1956).
7) DYER, W. J., MORTON, M. L., FRASER, D. I. and BLIGH, E. G.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **13**, 569 (1956).
8) SIMIDU, U, and SIMIDU, W.: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries*, **24**, 586 (1958).
9) BAILEY, K.: *The Proteins*, Vol. II, Part B, Academic Press, New York (1954), p. 986～988.
10) 右田正男・大竹茂夫： 本誌，**26**，140 (1960).
11) 上田侃男・志水　寛・清水　亘： 日本水産学会年会において講演 (1960).

COMPARATIVE STUDIES ON TWO HEMOGLOBINS OE SALMON-III. AMINO ACID COMPOSITION*

Hajime EGUCHI, Kanehisa HASHIMOTO and Fumio MATSUURA**

(*Received April 20, 1960*)

It has been reported in previous papers[1-4] that the two hemoglobins (as designated components F and S) of chum salmon are different from each other in several physico-chemical properties. These differences originate substantially from the difference of molecular structure between both components. Therefore, amino acid composition of the two components was determined as one of the steps to investigate their molecular structures.

Experimental

Materials Globin was split from crystalline specimens[3] of both components by the hydrochloric acid-acetone method[5], washed with acetone and ether, and air-dried. The specimen of component F was twice-crystallized one, but that of component S only once-crystallized due to the scarcity of sample.

Methods of analysis The globin was hydrolyzed with 20% hydrochloric acid for 24 hrs. and analyzed by the method of STEIN and MOORE[6]. A part of the globin was hydrolyzed with ca. 6 *N* baryta for 8 hrs. under the pressure of 15 lbs.[7], and analyzed for tryptophan by the method of ISHII[8]. Another part of the globin was hydrolyzed with 20% hydrochloric acid for 20 hrs. after oxidizing with performic acid, and analyzed for cystine and/or cysteine[9]. Each amino acid was estimated colorimetrically after the color development with ninhydrin.

Total nitrogen was determined according to the micro-DUMAS method.

Amide nitrogen[10]: The globin was refluxed with 2 *N* hydrochloric acid for 3 hrs., and neutralized. The solution was distilled in a KJELDAHL apparatus using a borate buffer of pH 8.6, and ammonia evolved was measured as amide ammonia.

Results and Discussion

Amino acid composition of both globins is shown in Table 1, together with that of hemolyzate calculated therefrom, assuming that the quantitative ratio of both components in it is F:S=55:45[1]. The data for tuna hemogldoin (Hb)[11] was also cited in the table for comparison. The following points will be indicated from these results.

(1) Amino acid composition is different as a whole between both globins, though

* This article was read before the Ann. Meeting of the Japan. Soc. Sci. Fish. held on April 4, 1960.

** Faculty of Agr., Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan. (江口 祝, 橋本周久, 松浦文雄: 東大農学部)

Table 1. Amino acid composition of components F and S of salmon Hb (g. amino acid in 100 g. protein). Value in parenthesis represents the number of residue per molecule of Hb (mol. wt. 68,000).

Amino acid	Component		Hemolyzate*	Tuna Hb**
	F	S		
Glycine	3.43 (31)	5.83 (53)	4.51	4.34 (38)
Alanine	8.54 (65)	9.91 (76)	9.16	8.49 (63)
Valine	7.07 (41)	9.08 (53)	7.97	7.28 (41)
Leucine	11.28 (59)	8.92 (46)	10.22	11.73 (59)
Isoleucine	5.91 (31)	5.71 (30)	5.82	5.68 (29)
Serine	4.87 (32)	4.99 (32)	4.93	4.48 (28)
Threonine	4.61 (26)	4.78 (27)	4.69	4.38 (24)
Methionine	2.08 (10)	3.06 (14)	2.52	2.81 (12)
½ Cystine	1.02 (6)	0.33 (2)	0.71	—
Aspartic acid	10.48 (54)	10.31 (53)	10.40	11.18 (55)
Glutamic acid	8.29 (38)	5.14 (24)	6.87	6.67 (30)
Proline	4.53 (27)	5.25 (31)	4.85	2.40 (14)
Phenylalanine	6.82 (28)	7.58 (31)	7.16	6.37 (25)
Tyrosine	2.31 (9)	3.85 (15)	3.00	4.63 (17)
Tryptophan	2.59 (9)	3.47 (12)	2.99	—
Lysine	8.44 (39)	9.56 (45)	8.94	8.64 (39)
Histidine	4.96 (22)	3.48 (15)	4.29	4.13 (18)
Arginine	4.10 (16)	3.02 (12)	3.61	5.58 (21)
Amide NH_3	0.78 (31)	0.68 (27)	0.73	—
Total§	102.11 (543)	104.95 (571)		94.78 (513)
Total N (%)	16.58	15.55		

* Calculated assuming the quantitative ratio of both components in the hemolyzate to be F: S=55:45.[1]

** From De Marco, et al.[11] The numbers of residues were calculated by the present authors.

§ Total number of residues excludes amide NH_3.

there are a few amino acids such as isoleucine, serine, threonine and aspartic acid whose contents are very similar between them.

(2) Among monoamino-monocarboxylic amino acids, leucine is most abundant in component F, while alanine in component S.

(3) Between acidic amino acids, glutamic acid is far less in component S than in component F. So is the case with histidine and arginine among basic amino acids.

(4) Component S contains only one third half-cystine of that of component F. Riggs[12] showed that there is a linear relationship between the degree of the Bohr effect on Hb and the number of its free sulfhydryl groups for many kinds of mammalia. The fact[13] that the Bohr effect is very large on component F, while little on component S, may be explained fairly well on the assumption that component F contains 6

cysteine and no cystine residues per molecule and component S one cystine and no cysteine residue per molecule. Further experiments will be performed to confirm this point.

(5) Total nitrogen of component S was 15.55%, whose value seems low exceptionally among chromoproteins such as Hb or myoglobin (Mb)[14]. This will be attributed to a certain degree to the low contents of basic amino acids mentioned above.

(6) There is a rough resemblance of the amino acid composition between tuna Hb and each component of salmon Hb, except proline, tyrosine, and arginine. Better resemblance can be seen when the hemolyzate (calculated) is used for the comparison instead of each component.

Then the following points will be noticed in particular when the present results are compared with the amino acid composition of mammalian Hb's.

(7) Both components of salmon contain appreciable amounts of isoleucine, whose absence seems to be one of the characteristics of mammalian adult Hb's.

(8) Histidine content is much lower in both components than in mammalian Hb's (e.g., horse[15] 8.71%, human[16] 8.49%).

(9) In contrast to the relatively low content of tryptophan in mammalian Hb's (mostly below 2%), components F and S contain 2.59 and 3.47% of tryptophan, respectively.

In connection to these two amino acids, there is a tendency seemingly that histidine content of Hb (or erythrocruorine) increases and tryptophan decreases as animal evolves from lower invertebrate up to higher vertebrate phylogenetically[17], with which the present results agree well.

The percentage distribution of groups in both components is shown in Table 2. These differences seem to be too slight between them to explain the differences in

Table 2. Percentage distribution of groups in both components.

	Component	
	F	S
Mean residue weight	106.5	103.2
Total number of residues	616	636
Groups:		
Free anionic	9.9	7.9
Cationic	12.5	11.3
Total ionic	22.4	19.2
Amide	5.0	4.2
Total polar	40.7	37.7
Total non-polar	47.4	52.5

various physico-chemical properties reported hitherto. The free anionic group is overcome by the cationic in both components as well as in most of mammalian Hb's. Comparing with the percentage distribution in mammalian Hb's it is pointed out first that the mean residue weight of both components is significantly small, especially in component S (e.g., horse[15] 112.5, human[16] 109.5). The total ionic and amide groups in both components are fairly similar to those in mammalian Hb's. The total of polar groups is 40% or so in both components, which are lower more or less than in mammalian Hb's (e.g., horse[15] 46.8%, human[16] 45%).

Summary

(1) The amino acid composition of the two components of salmon Hb was determined by the column chromatographic method.

(2) Difference was found between both components in many of amino acids, especially remarkable in glutamic acid, basic amino acids. and cystine and/or cysteine.

(3) The presence of isoleucine, the high content of tryptophan and the low content of histidine seem to be characteristic of these components in comparison with mammalian Hb's.

(4) The distributions of groups in both components differ in some respects from each other and further from those in mammalian Hb's.

The expenses of this investigation were defrayed partly by a research fund granted from the Ministry of Education.

References

1) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **24**, 719 (1959).
2) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *Ibid.* **24**, 724 (1959).
3) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *Ibid.* **25**, 465 (1959).
4) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *Nature* **184**, 1418 (1959).
5) Schmid, K.: *Helv. Chim. Acta*, **32**, 105 (1949).
6) Stein, W. H., and Moore, S.: *J. Biol. Chem.* **192**, 663 (1951).
7) Greene, R. K., and Black, A.: *Ibid.* **155**, 1 (1944),
8) Ishii, S.: *J. Biochem.* (Tokyo) **43**, 531 (1956).
9) Schram, E., Moore, S., and Bigwood, E. J.: *Biochem. J.* **57**, 33 (1954).
10) "The Chem. of Proteins" (in Japanese), Kyoritsu Press, Tokyo (1954), **vol. 1**, p. 243.
11) De Marco, C., and Antonini, E.: *Nature* **181**, 1128 (1958).
12) Riggs, A.: *Nature* **183,** 1037 (1959).
13) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **26**, 827, (1960).
14) Tristram, G. R.: "The Proteins", Acad. Press, New York (1953), **vol.** 1, Pt. A, p. 215.
15) Tristram, G. R.: "Haemoglobin", Butterworths Sci. Publ., London (1949), p. 109.
16) Rossi-Fanelli, A., Cavallini, D., and De Marco, C.: *Biochim. Biophys. Acta* **17**, 377 (1955).
17) e.g., Wyman, J., Jr.: *Adv. Prot. Chem.* **4**, 418 (1948).

食品保蔵上よりみた香辛料揮発成分の化学的研究—V.*
香料品質の簡易鑑定法

片 山 輝 久

(1960 年 4 月 30 日受理)

CHEMICAL SIGNIFICANCE OF THE VOLATILE COMPONENTS OF SPICES IN THE FOOD PRESERVATIVE VIEWPOINT—V.
A SIMPLE PROCEDURE FOR QUALITATIVE ASSAY OF SPICES

Teruhisa KATAYAMA**

Forty-three kinds of volatile hydrocarbons, alcohols, and esters were submitted to chromatostrip and their Rf values were determined. By the use of such Rf values and size of spot, essence added to fish ham and fish sausage could be learned in a short time by a simple apparatus and simple procedures, as well as revealing the main component. When *n*-hexane is used as developing solvents, oxygen-containing substances appear below Rf 0.3 and hydrocarbons above Rf 0.3, while the use of 15% ethyl acetate in *n*-hexane as the solvent gives the spot of hydrocarbons at above Rf 0.6, those of esters between Rf 0.50 and 0.60, and those of alcohols below Rf 0.5. Carbonyl compounds can be detected by spraying sulfuric acid solution of 2,4-dinitrophenylhydrazine to derive them to hydrazones on the strip.

緒　　言

フィッシュハム，フィッシュソウセージに添加される香辛料の揮発成分の抗菌性につき試験し[1,2]，さらに香辛料の揮発成分の主成分であるテルペン類の構造とその抗菌性につき試験した結果，その抗菌力は cyclohexane 内の二重結合の数による差異は余りみられず，さらに ketone 基を導入して cyclohexanone にしても抗菌性に変化がないが，－OH 基を導入した eugenol, vanilline, thymol, borneol, carvacrol 等に強い抗菌性のあることを明かにした[3]。つぎにフィッシュハム，フィッシュソウセージに添加される香料の品質あるいはその主成分を知る方法については余り研究されていない。一方これら香辛料揮発成分の主成分であるテルペンの chromatostrip については KIRCHNER[4,5,6,7], REITSEMA[8] 等の研究があり，わが国においても印藤[9]，古川[10] 等[11] が追試している。著者も海藻の揮発成分の研究途上 chromatostrip につき報告したが[12,13]，さらに 45 種の純テルペン，脂肪族アルコールにつきその Rf 値を決定し，15% 酢酸エチールヘキサンを展開溶媒とすると，有機性の炭化水素の Rf 値は 0.6 以上に，無機性基を有する含酸素物は 0.6 以下に，含酸素物中エステル類は Rf 値 0.50～0.59 に，アルコール類は 0.01～0.4 の間に，カーボニル化合物は 0.3～0.6 の間にある（カーボニル化合物のみは発色液が異なり，エステル類，アルコール類と識別することができる）ことを明かにし，これら等 Rf 値とそのスポットの大きさにより香料中の主成分を簡単な装置と方法により短時間に知ることができることを明かにしたので，ここに報告する。

実　　験

1. テルペン系化合物の chromatostrip

a. chromatostrip の調製　silica gel 20g と石膏 5g をよく混合し，これに水 42cc を加え，4cm×

* 前報 (IV). テルペンの構造とその抗菌性，本誌，**26**，29～32，1960.

** 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., Hiroshima Pref., Japan).

Table 1. Rf value of terpenes.

	Compounds	Developing solvents					
		Benzene	*n*-hexane	15% Ethylacetate in *n*-hexane	40% Ethylacetate in *n*-hexane	Carbontetra chloride	Chloroform
Hydrocarbones	α-Pinene	0.90	0.83	0.88	0.94	0.84	0.91
	β-Pinene	0.92	0.78	0.82	0.93	0.86	0.91
	Terpinolene	0.92	0.66	0.75	0.89	0.81	0.93
	Cadinene	0.93	0.74	0.83	0.91	0.80	0.93
	p-Cymene	0.88	0.52	0.64	0.85	0.72	0.93
	β-Phellandrene	0.86	0.72	0.82	0.90	0.78	0.88
	d-Limonene	0.95	0.47	0.72	0.89	0.82	0.92
Esters	Linalylacetate	0.37	0.04	0.53	0.89	0.05	0.50
	Geranylacetate	0.40	0.04	0.50	0.86	0.04	0.42
	Terpenylacetate	0.45	0.06	0.51	0.87	0.06	0.48
Alcohols and phenolic compounds	Geraniol	0.11	0.02	0.20	0.53	0.04	0.20
	Citronellol	0.04	0.00	0.01	0.10	0.02	0.03
	Eugenol	0.33	0.04	0.32	0.61	0.06	0.40
	Carbacrol	0.33	0.04	0.34	0.74	0.08	0.40
	α-Terpineol	0.10	0.04	0.24	0.56	0.03	0.03
	Isoborneol	0.14	0.00	0.32	0.64	0.00	0.00
	Isoeugenol	0.26	0.04	0.28	0.54	0.06	0.38
	Menthol	0.34	0.02	0.31	0.48	0.05	0.31
	Thymol	0.36	0.02	0.39	0.71	0.02	0.36
	Linalool	0.13	0.03	0.34	0.67	0.06	0.22
	Borneol	0.15	0.00	0.28	0.57	0.05	0.22
	Anethol	0.11	0.02	0.54	0.68	0.32	0.28
	Furfurylalcohol	0.07	0.01	0.13	0.35	0.02	0.14
	Safrol	0.76	0.17	0.51	0.81	0.36	0.74
	Isosafrol	0.77	0.16	0.67	0.82	0.40	0.76
Oxides	1: 8-Cineol	0.13	0.05	0.49	0.80	0.09	0.27
	Ascaridool	0.05	0.01	0.45	0.75	0.06	0.21
Carbonyl compounds	Pseudoionone	0.20	0.01	0.34	0.68	0.02	0.20
	Fenchon	0.30	0.01	0.51	0.62	—	0.33
	Ionone	—	—	0.59	—	—	—
	Carvone	0.28	0.04	0.40	0.74	0.07	0.35
	Anisaldehyde	0.22	0.02	0.22	0.57	0.05	0.33
	Citronellal	0.46	0.06	0.49	0.81	0.06	0.33
	Acetaldehyde	0.20	0.01	0.27	0.39	0.02	0.28
	Piperonal	0.22	0.00	0.30	0.54	0.03	0.40
	Perillaldehyde	0.26	0.04	0.41	0.66	0.08	0.38
	Furfural	0.14	0.02	0.29	0.66	0.06	0.33
	Citral	0.19	0.06	0.37	0.46	0.07	0.36
	Propionaldehyde	—	0.08	0.58	—	0.04	—
	Benzaldehyde	0.38	0.07	0.46	0.70	0.16	0.50
	Vanilline	0.07	0.00	0.074	0.36	0.00	0.09
	Isovanilline	0.02	0.00	0.054	0.32	0.00	0.14
	Cinnamaldehyde	0.24	0.03	0.34	0.63	0.08	0.36

20 cm の硝子板（市販窓硝子板）の両側に 2 mm 厚い硝子板を置き，この内に前記 silica gel 石膏の混液を入れスパーテルで表面を均一した。

b. 送風乾燥器　水浴乾燥器の底に穴を開け，ヘヤードライヤーをとりつけ，スライダックにて送風を加減して 80°C とし，この内に前記 strip を silica gel をつけた面を下にして入れ 1 時間 30 分乾燥した (MALLINCKRODT の silica gel は，表面にひびが入るのを防ぐため，硝子板の面を下に silica gel の面を上にして，直接ヘヤードライヤーからの風が当るのをさけた)。

c. 展開装置並びに展開溶媒　乾燥後 chromatostrip の一端より 4 cm のところに原線を，原線より 15 cm のところに印をつけ，展開溶媒は *n*-ヘキサン，15% 醋酸エチール・ヘキサン，ベンゼン，四塩化炭素を用い，内径 5 cm×25 cm の展開チューブ内で展開した。

d. 展開方法　strip の一端から 1.5 cm の原線上に試料を，3 cm のところに 1: 8-cineol を標準としてつけ，展開し，溶媒の先端が原線から 15 cm に達すると展開容器から取り出した。

e. 発色液　同一試料につき chromatostrip 2 枚で展開し，展開後 1 枚は 2, 4-dinitrophenylhydrazine・硫酸溶液[14]を噴霧しカーボニル化合物の存否を検し，他の 1 枚は硫酸・硝酸の混液（5: 1）を噴霧してカーボニル化合物以外の炭化水素，アルコール，エステル類の Rf 値を求めた。

f. テルペン類の Rf 値　展開溶媒は *n*-ヘキサン，15% 醋酸エチール・*n*-ヘキサン，40% 醋酸エチール・*n*-ヘキサン，四塩化炭素，クロロホルム，ベンゼンを用い，その Rf 値をみるとつぎのごとき結果を得た。

Table 1 のごとく，15% 醋酸エチール・*n*-ヘキサンを展開剤として展開すると，有機性の炭化水素の Rf 値は 0.6 以上に，無機性基を有するアルコール類は 0.01〜0.4 の間に，エステル類は 0.50〜0.59 の間にあり，カーボニル化合物は発色液として 2, 4-dinitrophenylhydrazine-硫酸を噴霧し，strip 上にて有色の hydrazone として，他の含酸素物であるアルコール，エステル類と識別することができる。したがつて香料エッセンスの少量をとり，上記の方法，装置を用いて展開し，発色液を噴霧することにより Rf 値，spot の色，spot の大きさにより主成分を識別することができる。さらに確実を期するにはミクロ分溜装置[15]で分溜し，各溜分を chromatostrip にかけ，発色液の色調，Rf 値，spot の大きさ，比と沸点曲線[15),16]より識別することができる。

総　　括

1. 43 種のテルペンを chromatostrip にかけ，その Rf 値を決定し，Rf 値，spot の大きさから，魚肉ハム，魚肉ソーセージに添加される香料の品質を簡単な装置と方法により，短時間に知ることができる。

2. 15% 醋酸エチール・*n*-ヘキサンを展開溶媒として展開すると，炭化水素の Rf 値は 0.6 以上に，エステル類は 0.5〜0.6 の間に，アルコール類は 0.5 以下にあり，カーボニル化合物は 2, 4-dinitrophenylhydrazine・硫酸溶液を噴霧して strip 上で有色の hydrazone として識別することができる。

3. *n*-ヘキサンを展開溶媒として展開すると炭化水素の Rf 値は 0.31 以上に，含酸素物は 0.3 以下，40% 醋酸エチール・*n*-ヘキサンを展開溶媒とすると，含酸素物の Rf 値は大となり，炭化水素の Rf 値は 0.9 となり含酸素物の識別は容易である。

文　　献

1) T. KATAYAMA, I. NAGAI: *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **2**, 349 (1959).
2) T. KATAYAMA, I. NAGAI: *ibid.*, **2**, 355 (1959).
3) 片山輝久・永井　勇: 本誌, **26**, 29 (1960).
4) J. G. KIRCHNER, J. M. MILLER: *Anal. Chem.*, **23**, 420 (1951).
5) J. M. MILLER, J. G. KIRCHNER: *ibid.*, **23**, 428 (1951).
6) J. M. MILLER, J. G. KIRCHNER: *ibid.*, **24**, 1480 (1952).
7) J. M. MILLER, J. G. KIRCHNER: *ibid.*, **25**, 1107 (1953).

8) R. H. REITSEMA: *ibid.*, **26**, 960 (1954).
9) 印藤元一・小沢敏雄: 日本樟脳協会誌, **18**, 29 (1953).
10) T. FURUKAWA: *J. Sci. Hiroshima Univ.*, **21**, 285 (1958).
11) 伊藤昌明・若松　茂: 日本化学会誌, **25**, 413 (1954).
12) 片山輝久: 本誌, **21**, 413 (1955); **21**, 417 (1955); **21**, 420 (1955); **21**, 425 (1955); **22**, 244 (1956).
13) T. KATAYAMA: *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **2**, 67 (1958).
14) O. L. BARDAY: *J. Chem. Soc.*, 1572 (1931).
15) 片山輝久: 本誌, **21**, 412 (1955).
16) R. S. DANIEL: *Ind. Eng. Chem.*, **39**, 517 (1947).

海藻の揮発成分に関する化学的研究—XV.*

コンブ *Laminaria* sp. の揮発成分について（その3）

片　山　輝　久

(1960 年 4 月 30 日受理)

CHEMICAL STUDIES ON VOLATILE CONSTITUENTS OF SEAWEED—XV. ON VOLATILE CONSTITUENTS OF *LAMINARIA* SP. (3)

Teruhisa KATAYAMA**

The contents of the volatile components of *Laminaria* sp. differ according to habitat and quality. This *Laminaria* from Hidaka district contains larger amount of volatile components than that from Kushiro district, while the content is lager in better quality products. The fatty acid fraction saponified with 3% potassium hydroxide contained myristic acid, and there was no presence of carbonyl compounds possessing a phenol radical. Neutral fraction from the volatile components of *Laminaria* sp. contained uneicosane and also substances which showed silvery white and yellow fluorescence. These substances were purified through column chromatography and their elemental analyses gave the molecular formulae of $C_{14}H_{15}O_2$ and $C_{11}H_{20}O$.

コンブ *Laminaria* sp. の揮発成分の含量についてはすでに報告したが[1),2)]，等級並びに産地による揮発成分の含量の相異を明らかにした。また，揮発性脂肪酸として，重炭酸ソーダ可溶区（遊離脂肪酸区）は silica gel を吸着剤とし，2, 2, 4-trimethylpentaneを展開剤として column chromatography にかけ，各 fraction を *p*-bromphenacylester として，formic, acetic, propionic, butyric, isovaleric, caprylic, *n*-caproic acids を確認し，3% 苛性カリ可溶，炭酸ソーダ可溶区に palmitic acid, C_{16} の不飽和脂肪酸の存在を確認して報告した[3)]。今回 3% 苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ可溶区（3% 苛性カリにて鹸化されて得た脂肪酸）は column chromatography[3),4)] にかけ[3),4)]，アナアオサ *Ulva pertusa K.* の揮発成分と同様[5)] myristic acid の存在を確認した。また 3% 苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ不溶，炭酸ソーダ不溶区（phenol 区）[1)] より phenol 基を有する carbonyl 化合物の分離を試みたが，本物質は存在しなかった。中性区分は分溜後 chromatostrip にかけ，furfuryl alcohol, 1: 8-cineol, linalool, geraniol の存在を明かにしたが[3)]，今回 silica gel を吸着剤として column chromatography にかけ，アオノリ *Enteromorpha* 同様[6)] uneicosan の存在を確認し，銀白色の蛍光を発する炭化水素1種（Rf 値 0.85），含酸素物2種（Rf 値 0.61, 0.33）と黄色蛍光を発する含酸素物1種（Rf 値 0.53）の存在を認め，silica gel を充填した column chromatography にかけ，同一 band を集め，含量の多い銀白色蛍光物質（Rf 値 0.61）および黄色蛍光物（Rf 値 0.53）を集めて，元素分析の結果それぞれ $C_{14}H_{15}O_2$, $C_{11}H_{20}O$ の実験式を与えたのでここに報告する。

実　　験

1. 産地別，等級別コンブ *Laminaria* sp. の揮発成分の含量　釧路産の 2, 3, 4 等，日高産の 4, 5 等

* 前報 (XIV), 本誌, **24**, 925～932 (1959).

** 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., Hiroshima Pref. Japan).

コンブ *Laminaria* sp. の揮発成分の含量は Table 1 のごとくである。

Table 1. The contents of volatile components of *Laminaria* sp. according to habitat and quality.

Habitat	Quality	Moisture %	Contents of volatile compounds in dried matter %
Kushiro	2nd class	18.9	0.028
〃	3rd 〃	19.9	0.022
〃	4th 〃	19.2	0.021
Kushiro (Hamanaka)	〃 〃	22.1	0.026
Hidaka (Horomushiro)	〃 〃	19.9	0.029
Hidaka (Hiro-o)	5th 〃	25.7	0.031
Habomai	2nd 〃	24.9	0.033

すなわち等級別では上等のもの程揮発成分の含量が多く，また産地別では，日高産のものの方が，釧路産のものより揮発成分の含量は多かつた。

2. 3% 苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ可溶区（3% 苛性カリにより鹼化されて得た脂肪酸）[1),5),6)] より myristic acid の確認　3% 苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ可溶区はコンブ *Laminaria* sp.（釧路産）100kg より約 3g を得た。室温（26°C）にて固状を呈し，アルコールより再結すると m.p. 46～49°C，*p*-bromphenacylester とし[1),8)]，アルコールより再結すると m.p. 78～80°C，純 myristic acid の *p*-bromphenacylester（m.p. 81～81.5°C）と混融するも融点の降下をみなかつた。また両者の赤外線吸収スペクトルもよく一致した。さらに myristic acid 以外の脂肪酸の存在をみるため，この区分約 100mg をとり silica gel を吸着剤とし，methanol を固定相，2,2,4-trimethylpentane を展開溶媒とし，窒素ガスで加圧下に column chromatography にかけ[3),4)]，流出液 5cc 宛をとり 1/50N 苛性ソーダにて滴定した。その結果はつぎのごとくである。すなわち 3% 苛性カリにより鹼化されて得た脂肪酸は myristic acid で微量の propionic，acetic acids を含んでいた。

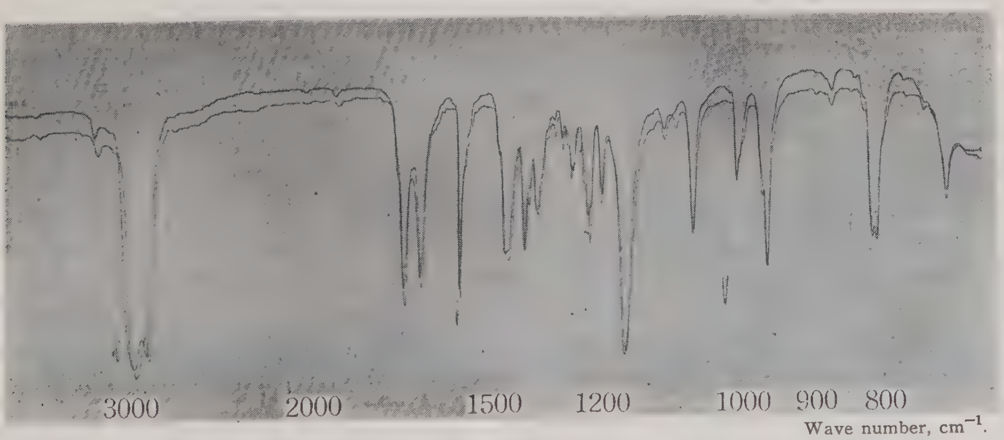


Fig. 1. No. 1: The infrared absorption spectra of a *p*-bromphenacylester (M.P. 78～80°C).
No. 2: Tne infrared absorption spectra of a *p*-bromphenacylester of myristic acid (M.P. 81～81.5°C).

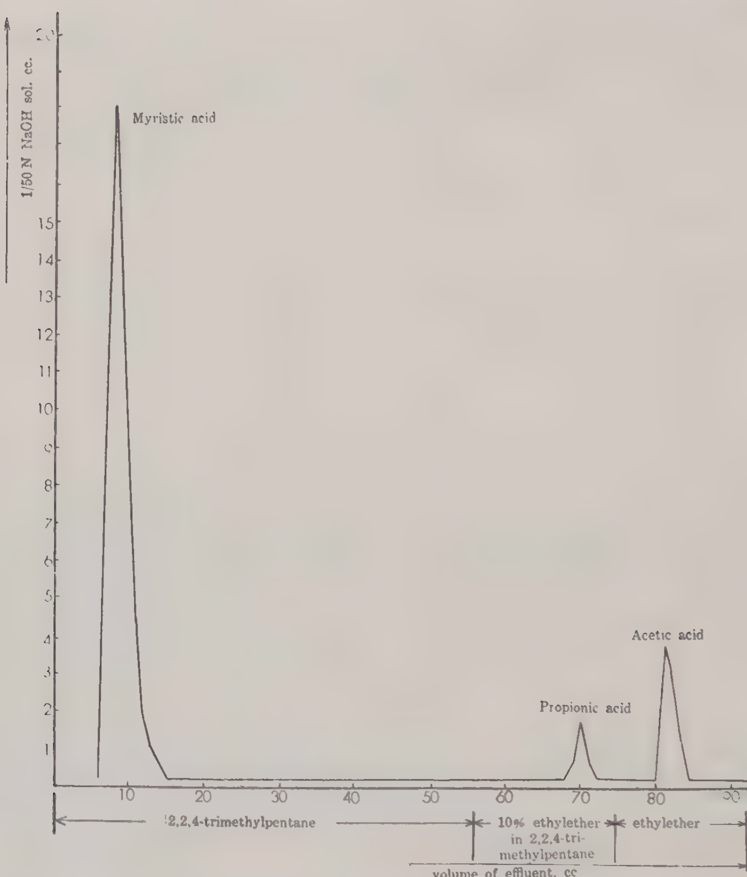


Fig. 2. Chromatographic separation of the fatty acid fraction saponified with 3% potassium hydroxide.

3. 3% 苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ不溶，炭酸ソーダ不溶区（phenol 区）[1),6)] より phenol 基を有する carbonyl 化合物の分離　苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ不溶，炭酸ソーダ不溶区（phenol 区）より，carbonyl 基を有する phenol を分離する目的で，30% 酸性亜硫酸ソーダ溶液と振盪して，ether 可溶区と酸性亜硫酸ソーダ可溶区に分つた。酸性亜硫酸ソーダ可溶区は炭酸ソーダでアルカリ性とし再び水蒸気蒸溜に附し，溜出液は食塩を飽和して ether にて抽出し，ether 層は脱水後 ether を除去した。コンブ *Laminaria* sp. 100 kg より約 30 mg を得た。chromatostrip にかけると[9)-12)] Rf 値 0.47, 0.27, 0.19 にして benzaldehyde[1)], α methylfurfural[1),3)], furfural[1)] の Rf 値に相当し，原点およびその近くには spot はみられなかつた[13)]。したがつて carbonyl 基を有する phenol 化合物は含まれていない。得られた 30 mg は carbonyl 区分（phenol 基を有しない）から混入したものと考える。

4. 中性区分より螢光物質および uneicosan の単離

a. 螢光物質の単離　中性区分は分溜し，各 fraction は 15% 酢酸エチール・*n* hexane を展開剤として chromatostrip にかけ，furfuryl alcohol, 1: 8 cineol, linalool, geraniol の存在を明かにした[3)]が，紫外線（波長 3600 Å）照射下に chromatostrip を観察したところ，中性区分の分溜後 No. Ⅷ (b. p. 81～90°C, at 3 mm)[3)]～No. Ⅻ (b. p. 101～110°C, at 3 mm)[3)] に銀白色螢光を発する spot 3種 (Rf 値 0.85, 0.61, 0.33)，黄色螢光を発する spot 1種 (Rf 値 0.58) の存在を認めた。silica gel を吸着剤とし 15%

ethylether・n-hexane を展開剤として，暗室で紫外線（波長 3600 Å）照射下に，これ等を column chromatography にかけ，螢光を発する同一 band を別々にとり溶剤を減圧下に除去するといずれも油状物質を得た。これ等の内収量の多い銀白色螢光物質（chromatostrip で Rf 0.61）と黄色螢光物質（Rf 値 0.53）は chromatostrip 的に純粋であることを確め元素分析をした結果つぎのごとくである。

銀白色螢光物質　(chromatostrip で Rf 0.61)

$n_D^{25} = 1.4665$

試料　3.270 mg

CO_2　9.386 mg　　C：78.33%

H_2O　3.026 mg　　H：10.36　　実験式　$C_{14}H_{15}O_2$

黄色螢光物質　(chromatostrip で Rf 0.53)

$n_D^{25} = 1.4691$

試料　2.970 mg

CO_2　8.544 mg

H_2O　2.999 mg　　実験式　$C_{11}H_{20}O$

赤外線吸収スペクトルをとればそれぞれつぎのごとくであつた。目下多量に採収中である。

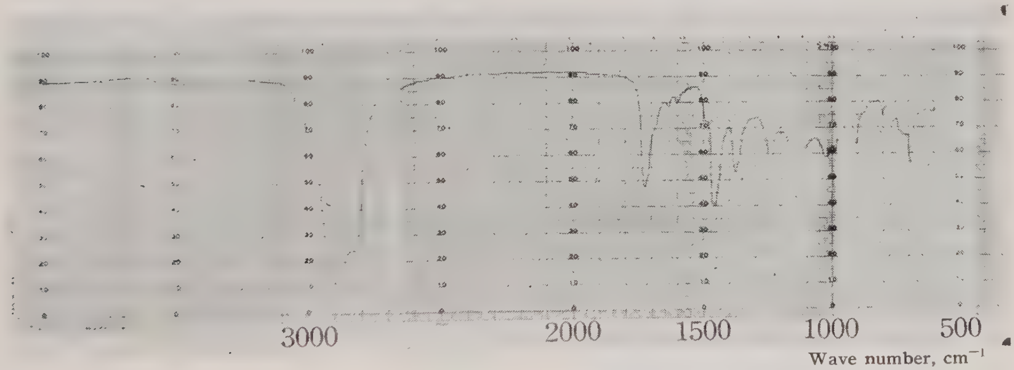


Fig. 3. The infrared absorption of a silvery fluorescent substance.

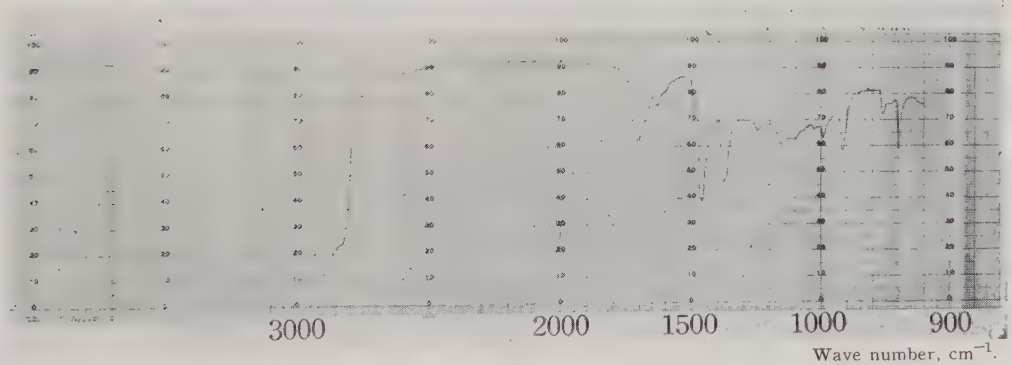


Fig. 4. The infrared absorption of a yellow fluorescent substance.

b. uneicosan の単離　分溜後 No. XI (b. p. 91～100°C, at 3 mm)[3] fraction を silica gel を吸着剤とし 15% ethylether・n-hexane を展開剤として column chromatography にかけるに際し，初流出液

20 cc をとり（炭化水素区）[13),14)] 減圧下で溶媒を除去すると結晶物を得た，ethanol より再結すると m.p. 40～01°C にして，アオノリ *Enteromorpha* sp. より得た uneicosan[6)] と混融しても融点の降下をみなかつた。したがつて uneicosan の存在を確認した。

総　　括

1. アサクサノリ *Porphyra tenera K.*[16)] 同様産地により揮発成分の含量を異にし，日高産のコンブ *Laminaria* sp. は釧路産のものより揮発成分の含量は多く，また上等のもの程揮発成分の含量は多かつた。

2. 3% 苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ可溶区（3% 苛性カリにて鹸化されて得た脂肪酸）に myristic acid の存在を *p*-bromphenacylester として赤外線吸収スペクトルをとり確認し，さらに silica gel を吸着剤とし methanol を固定相とし 2,2,4-trimethylpentan を展開剤として column chromatography にかけ，myristic acid のみの存在を明かにした。

3. 3% 苛性カリ可溶，重炭酸ソーダ不溶，炭酸ソーダ不溶区（phenol 区）より carbonyl 基を有する phenol 化合物の分離を試みたが，コンブ *Laminaria* sp. 100 kg より 30 mg を得たに過ぎず，chromatostrip にかけ，benzaldehyde, α-methylfurfural, furfural の存在はみられたが，他の spot は得られず carbonyl 基を有する phenol 化合物は含まれていないことを明かにした。

4. 中性子区分は分溜後 chromatostrip にかけ，紫外線照射下に観察したところ，4 種類の螢光物質の存在を明かにし，silica gel を吸着剤とし 15% 醋酸エチール・*n*-hexane を展開剤として column chromatography にかけ単離し，収量の多い銀白色螢光物質と黄色螢光物質を得，chromatostrip 的に純粋であることを確め，元素分析をしてそれぞれ $C_{14}H_{15}O_2$, $C_{11}H_{20}O$ の実験式を与えた。また沸点 91～100°C at 3 mm の fraction を column chromatography にかけるに際し，初流出区の炭化水素区分に uneicosan の存在を確認した。

本研究の進展に当り，終始御懇切に御指導賜つた九州大学農学部富山哲夫教授に感謝の意を表する。

文　　献

1) 片山輝久：本誌，**24**，346～354 (1958).
2) 片山輝久：藻類，印刷中.
3) 片山輝久：本誌，**24**，925～932 (1959).
4) F. A. VANDENHEUVEL, E. R. HAYES: *Anal. Chem.*, **24**, 960～965 (1952).
5) 片山輝久：本誌，**19**，793～797 (1953).
6) 片山輝久：本誌，**21**，420～424 (1955).
7) W. L. JUDEFIND, E. E. REID: *J. Amer. Chem. Soc.*, **42**, 1043～1055 (1920).
8) R. E. SCHREINER, R. C. FUSON: "Systematic Identification of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1948.
9) J. G. KIRCHNER, J. M. MILLER and J. G. KELLER: *Anal. Chem.*, **23**, 420～425 (1951).
10) J. M. MILLER, J. G. KIRCHNER: *Anal. Chem.*, **23**, 428～430 (1951); *ibid.*, **25**, 1107～1109 (1953).
11) R. H. REITSEMA: *Anal. Chem.*, **26**, 960～963 (1954).
12) 片山輝久：本誌，**21**，416～419 (1955).
13) T. KATAYAMA: *J. Fac. Fish. Anim. Husb., Hiroshima Univ.*, **2**, 67～77 (1958).
14) 片山輝久：本誌，**26**，814 (1960).
15) 片山輝久：本誌，**22**，244～247 (1956).

γ 線を照射した水産食品に含まれる油脂の性状について—II.

包装材の差による油脂の変敗度の相違

金田尚志・石井清之助・酒井寿恵

(1960 年 5 月 10 日受理)

CHEMICAL PROPERTIES OF OILS IN GAMMA-RADIATED FISH MEAT AND PRODUCTS—PART II.

DIFFERENCE OF PROPERTIES OF THE OIL BY VARIOUS PACKING FILMS

Takashi KANEDA, Seinosuke ISHII and Hisae SAKAI*

The authors studied about the oil contained in gamma-irradiated fish meat. The results obtained were as follows:

(1) The grade of oxidation of oil in irradiated meat was influenced by source. When the source of irradiation was weak or far from sample meat, the oil was oxidized to a greater extent than in using of strong source (Table 1).

(2) Oils in irradiated fish meat was fairly prevented from oxidation by subjecting the samples, before irradiation, to vacuum packing, instilment of CO_2, or immersion in ascorbic acid solution (Table 2).

(3) The grade of oxidation of oils in irradiated fish meat was different by kinds of packing film. Films made from polyvinyliden chloride, Polycello (polyethylen laminated with cellophane) or rubber hydrochloride showed better results than polyethylen film (Table 3).

I. 緒　　　言

本研究の第 I 報[1]において筆者等は γ 線を照射した魚肉および魚肉ソーセージ含有油の性状について検討したが，その際，単なる照射では油脂含量の多い魚肉は含有油の酸敗を起すほか，変色，照射臭を生じ，食用となし得ないことを報じた。

第 I 報に報じた試験は線源として用いた Co^{60} の線量が弱く (400 キューリー)，したがつて照射に長時間を要したため，照射中に魚肉の腐敗が進行したように思われ，これが一層結果を悪くしたと考えられた。その後東海区水産研の Co^{60} は 1500 キューリーにまでふやされたので，短時間照射が可能となつた。そこでまず照射時間の差，すなわち，魚肉の腐敗程度と含有油の変化との関係について検討を行つた。すなわち，線源よりの距離を変えて 5 時間より 48 時間にわたり照射したところ 24 時間を過ぎると急激に含有油の酸化が進むことを認めた。また生鮮魚肉にふくまれている酵素の含有油に対する影響を検討するため煮熟肉と生魚肉を同時に照射し比較したが，両者の差は僅かであつた。

第 I 報において抗酸化剤を添加したマグロは変色は起るが，含有油脂の酸化はかなり防止されることを認めたが，さらに炭酸ガス注入およびアスコルビン酸浸漬を行つたところ，変色は前試験同様防げなかつたが含有油については未処理のものに較べ好結果を得た。またサケ肉変色防止について調べたところ，亜硝酸ソーダの稀薄溶液に浸漬後照射すると多少の効果があることが認められた。

---

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.).
東海区水産研究所業績 B 332 号

以上の試験はいずれもポリエチレンの袋に試料魚肉を入れて行つたが，ポリエチレンの通気性から考え，多脂肪魚肉の包装材としては不充分と思われた。そこで包装材料の差による照射魚肉含有油の性状を見たところ，ポリビニリデンクロライド，ポリセロ，塩酸ゴム等はいずれもポリエチレンよりも好結果を得，とくに減圧ないし炭酸ガスを注入したものは一層良いことを認めた。

II. 実験の部

実験 1. 照射時間の差によるサケ肉含有油の性状: 北洋産冷凍シロザケの肉を厚さ 1cm，縦 4cm，横 5cm に切り，ポリエチレンの袋に詰め，口を加熱シールして線源 (Co^{60} 1500 キュリー) のまわりに衝立状に並べた。線源よりの距離は 6～19cm であり，照射時の室温は 9°C であつた。照射終了後直ちにサケ肉中の揮発性塩基を定量するとともに照射肉を細切し，脱水芒硝と煉り精製エーテルを用いて粗脂肪を分離しその性状を見た。得られた結果は Table 1 のごとくである。

Table 1. Properties of oil in irradiated salmon meat.
第 1 表 サケ肉照射結果

Sample Number 試料番号	Distance from source 線源よりの距離 (cm)	Duration (hours) 照射時間	Dose 照射量	Volatile base in meat 揮発性塩基窒素	Properties of oils 油脂の性状 Acid value 酸価	Iodine value 沃素価	Sap. value 鹸化価	Peroxide value 過酸化物価	Carbonyl[2)] (Micromol/g) カーボニル化合物 飽和	不飽和
			γ	mg%				(M.M./kg)		
1	—	0	None	21.52	6.5	126.92	180.92	43	4.35	0.22
2	6	5	2×10⁶	18.83	6.3	129.26	184.34	67	1.29	—
3	13.5	24	〃	20.68	7.1	131.86	183.87	85	—	0.92
4	19	48	〃	29.75	5.8	120.34	—	162	0.14	0.2

照射後の状態を見るにサケ肉は第 I 報に報じたクロマグロ肉のごとく暗褐色に変色することはなかつたがシロザケ特有のサーモンピンクは消失し，淡黄色となつた。また 200 万レントゲンの照射に 48 時間を要したものは揮発性塩基が 24 時間照射のものに較べ，それほど増加していないにかかわらず，過酸化物価は 2 倍近くまで上昇した。

実験 2. 抗酸化処理照射時のサケ肉含有油の性状: 実験 1 に使用したサケ肉と同一のものを用いた。サケ肉含有油の変敗を防止するためサケ肉を詰めたポリエチレンの袋に炭酸ガス注入を行つた。また照射前サケ肉を 1% アスコルビン酸水溶液に 20 分浸漬したものについても試験した。なお本試験は照射中における腐敗を防止するために凍結したまま照射した。照射量は 200 万レントゲンで照射に要した時間は 24 時間である。照射終了後前試験同様にして粗脂肪を分ち，その性状を見たところ Table 2 の結果が得られた。

Table 2. Properties of oil in irradiated salmon meat treated with antioxidant.
第 2 表 抗酸化処理照射サケ肉油の性状

Sample Number 試料番号	Doses 照射量	Treatment 処理法	Duration (hours) 照射時間	Acid value 酸価	Iodine value 沃素価	Sap. value 鹸化価	Peroxide value 過酸化物価	Carbonyl (Micromol/g) カーボニル化合物 飽和	不飽和
	γ						(M.M./kg)		
1	None	—	0	4.6	129.30	182.89	27	5.8	—
2	2×10⁶	None 未処理	24	5.7	121.87	180.57	107	0.28	1.99
3	〃	Instilment of CO_2 炭酸ガス注入	24	6.8	129.16	189.86	78	—	—
4	〃	Immersion in ascorbic acid アスコルビン酸浸漬	24	5.1	125.58	183.79	66	1.14	1.23

照射サケ肉はいずれも前試験同様褪色し淡黄色となつたが，炭酸ガス注入ないしアスコルビン酸浸漬等の処理を行つたものは未処理のものに比較し含有油の変敗程度が少いことを認めた。

実験 3. 包装材料の差によるメバチ肉含有油の性状： 今までに行つた試験の結果，ポリエチレンフィルム包装による魚肉貯蔵は炭酸ガス注入ないし魚肉に抗酸化剤を添加することにより魚肉含有油の変敗をかなり防止し得ることを認めたが，完全とはいい難い。そこでポリエチレンより通気性の少い包装材を用い，その効果を検討した。すなわち，ポリビニリデンクロライド（商品名クレハロン），ポリセロ，塩酸ゴム（商品名ライファン）等の袋を用いて試験を行つた。またこの際同時に炭酸ガスの注入ないし真空にした場合についても比較試験した。

試料としてはメバチ肉を用い，これを前試験同様の大きさに切り，おのおの袋に詰め，口を綿糸で緊縛した。200 万レントゲンを 20 時間で照射し，室温は 3°C に調節した。得られた結果は Table 3 のごとくである。

Table 3. Difference of the properties of oil in irradiated bigeye tuna meat by packing films.

第 3 表 包装材料の差によるメバチ含有油の性状

Packing film 包装材名	Treatment 処理法	Acid value 酸価	Iodine value 沃素価	Sap. value 鹼化価	Peroxide value 過酸化物価	Reichert-meissl value ライヘルトマイスル価	Polenske value ポレンスケ価	Carbonyl (Micromol/g) カーボニル化合物 飽和	不飽和
					M.M./kg				
Original bigeye tuna meat 原材料	—	3.5	156.56	184.69	25	0.4	0.5	0.76	1.86
Polyethylen ポリエチレン	None 無処理	2.6	153.58	189.94	57	0.3	0.4	9.36	11.05
	Vacuum 真空	3.8	155.74	188.32	48	0.6	0.7	1.37	0.77
	Instilment of CO_2 炭酸ガス注入	4.9	153.21	188.75	73	0.7	0.7	3.09	4.10
Polyvinyliden chloride ポリビニリデンクロライド	None 無処理	3.1	154.57	186.44	35	0.7	1.5	3.54	3.02
	Vacuum 真空	2.7	153.73	186.15	20	0.6	2.2	3.64	5.0
	Instilment of CO_2 炭酸ガス注入	2.8	152.08	187.19	20	0.3	0.7	0.45	0.76
Polycello ポリセロ	None 無処理	6.3	156.81	188.14	49	0.6	1.1	0.91	1.04
	Vacuum 真空	3.8	156.12	190.85	23	0.6	1.4	0.19	1.82
	Instilment of CO_2 炭酸ガス注入	2.7	151.96	186.29	37	0.8	0.4	1.16	4.83
Rubber hydrochloride 塩酸ゴム	None 無処理	3.6	152.78	184.94	25	0.8	0.5	1.18	—
	Vacuum 真空	3.1	156.56	189.19	25	0.8	0.6	1.11	1.44
	Instilment of CO_2 炭酸ガス注入	4.5	151.44	188.14	48	0.8	1.0	1.43	2.44

本結果を見るにクレハロン，ポリセロおよびライファンで包装したものは従来用いていたポリエチレンよりもはるかに油脂の変敗が少いことを認めた。

III. 考　察

以上の結果より考察するに γ 線照射時の魚肉中の油脂の変敗度は包装材料によりかなり異ることが判る。

また真空包装ないし不活性ガスの注入は一層変敗を防止する。しかし，現在までに筆者等が行つた試験の範囲内では色のある魚肉はいずれも変色が大であるため，この問題を解決することなしには実用化は困難と思われる。

IV. 摘　　要

Co^{60} を線源として，サケ，メバチ肉に γ 線を照射しつぎの結果を得た。

（1） 線源よりの距離が遠かつたり，弱い線源を用いて長時間照射を行うと，強い線源で短時間照射した場合よりも魚肉含有油の変敗が著しい。

（2） 真空包装，炭酸ガス注入あるいは魚肉を照射前にアスコルビン酸溶液に浸漬すると魚肉含有油の変敗はかなり押えられる。

（3） 包装材の種類により油脂の変敗度には差があり，ポリビニリデンクロライド，ポリセロ，塩酸ゴム膜等はポリエチレンよりも良好である。

本研究を行うにあたり，原稿の校閲を賜わつた東海水研利用部長　東秀雄博士，γ 線を照射された東海水研　山田金次郎技官に謝意を表する。

文　　献

1) 金田，酒井，石井： 日水誌 **24**，909 (1959)
2) A.S. Henick, M.F. Benca and J.H. Mitchell: J. Am. Oil. Chem. Soc. **31**, 88 (1954)

COMPARATIVE STUDIES ON TWO HEMOGLOBINS OF SALMON—IV. OXYGEN DISSOCIATION CURVE*

Kanehisa HASHIMOTO, Yuzo YAMAGUCHI, and Fumio MATSUURA**

(Received May 10, 1960)

It has been reported previously that chum salmons possess two types of hemoglobin (Hb) (as designated components F and S by the authors) in their blood, whose properties such as electrophoretical behavior, solubility, absorption spectrum, heat coagulability, amino acid composition and molecular shape differ distinctly from each other[1-5]. In addition, it was found later that component S is more alkali-resistant and more autoxidizable than component F is[6].

However, in order to clear up probable significances of the existence of the two Hb's it seemed necessary to investigate their properties relating to oxygen dissociation, on which is based the most characteristic function of Hb. The present paper therefore deals with the effects of various factors upon the oxygen dissociation curve of both components.

Experimental

Materials Blood was collected last Dec. from several individuals of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, at a small river (the Takibuchi) of Yamagata Pref., and transported to our laboratory keeping ice-stored overnight.

The oxalated blood was then treated as usual, and the red blood cells obtained were mixed with the glycerol-citrate mixture according to CUSHING *et al.*[7] and stored at $-20°C$. for later experiments. On the day before measurements of oxygen dissociation, the sample was dialysed against ice-water, and the supernatant hemolyzate was electrophoresed overnight on starch block using a veronal buffer of pH 8.6 and 0.05 μ[2], after the removal of cell debris by centrifugation. Components F and S thus separated were extracted with distilled water, dialysed against ice-water, and then submitted to measurements. Purity of each component was more than 99% as estimated by the heat coagulability test[8].

Measurements were carried out not only on each component, but also on hemolyzate itself.

Measurement of oxygen dissociation curve The method for measuring oxygen dissociation curves is based essentially on the RIGGS' method[9]. The outline of the method is as follows: Hb solution (4 *ml.*) is pipetted into a tonometer connected with a special quartz cell, which is a slight modification of the RIGGS' apparatus, its total

* This article was read before the Ann. Meeting of the Japan. Soc. Sci. Fish. held on April 4, 1960.

** Faculty of Agr., Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan (橋本周久，山口雄三，松浦文雄：東大農学部)

volume being *ca.* 500 *ml.* and the cell depth *ca.* 0.4 *mm.* The tonometer is evacuated to 13 *mm.* Hg usually by water jet pump, into which nitrogen gas is introduced at an atmosphere, and evacuated again. After injecting with a calculated volume of air, the tonometer is rotated slowly (60～80 r.p.m.) horizontally in a water bath at constant temperature (usually 15°C.) to equilibrate the reaction between Hb and oxygen. The degree of the reaction, or the degree of oxygen saturation of Hb, is measured indirectly by tracing the change in absorption spectrum. This operation is repeated with increasing amounts of air, and an oxygen dissociation curve is obtained by plotting the saturation degree of Hb against the oxygen pressure which can be calculated from the volume of air injected and the volume of the tonometer, *etc.*

All the final concentration of pigment was fixed on ca. 0.3%, because of technical reasons. No concentration effect of the pigment was observed in preliminary experiments, in which the range of concentration for hemolyzate, components F and S were 0.25～2.20%, 0.11～0.73%, and 0.20～0.80%, respectively. In most of the experiments was used the phosphate buffer whose final concentration is 0.1 *M* and the final pH 7.3～7.4, considering the physiological condition of blood, as far as not specified otherwise.

Results and Discussion

1) **pH effect or Bohr effect** The effect of pH of the solution upon the oxygen dissociation curve of hemolyzate is shown in Fig. 1. The curve at pH 7.41 is comparable anyhow to that of the Atlantic salmon, *Salmo salar*, reported by Benditt, *et al*[10]. The pH effect is fairly large, and the lower the pH, the more decreases the oxygen affinity of the hemolyzate. There are two noticeable points here: First, oxygen dissociation curve is found to be discontinuous, at 40 *mm.* Hg at pH 7.20. Secondly, curves remain almost unchanged below pH 7.00.

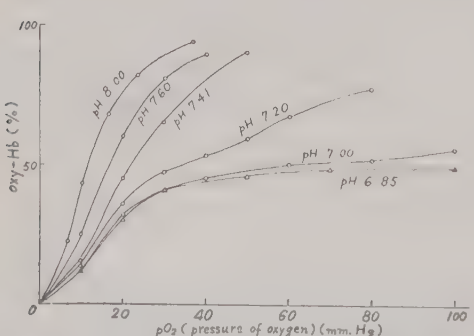


Fig. 1. The pH effect on the oxygen dissociation curve of the hemolyzate (0.1 *M* phosphate buffer, 15°C.).

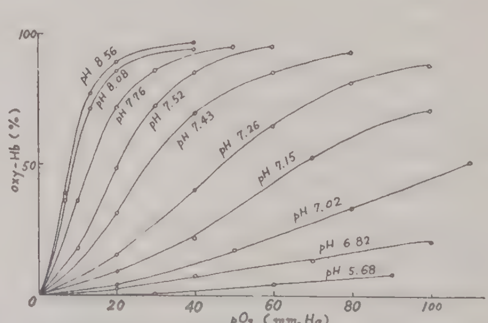


Fig. 2. The pH effect on the oxygen dissociation curve of component F (0.1 *M* phosphate buffer, 15°C.).

The pH effect on each component is shown in Figs. 2 and 3. As seen in Fig. 2, the oxygen affinity of component F decreases drastically as pH becomes lower,

especially in the physiological pH range. The pigment could not be oxygen-saturated more than 20% even in the atmosphere at pH 6.8 or below. The "n" value in the HILL's equation was *ca.* 2.4 between pH 7.76 and 7.15, outside whose region "n" became smaller more or less. On the contrary, component S is affected hardly by pH over the wide range of 5.73~8.48 (Fig. 3). The "n" value was found to be also *ca.* 2.4.

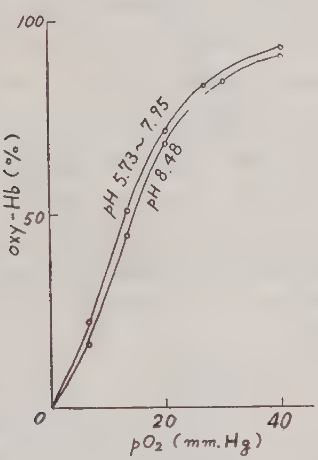


Fig. 3. The pH effect on the oxygen dissociation curve of component S (0.1 *M* phosphate buffer, 15°C.).

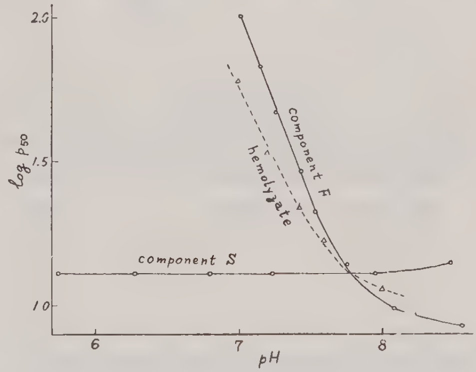


Fig. 4. The log p_{50} (oxygen pressure at half saturation) *vs.* pH curves for both components and the hemolyzate.

The discontinuity of the curve in the case of the hemolyzate mentioned above, will be explained well on the basis of the differences of oxygen dissociation property between both components which are present in approximately equal amounts in the hemolyzate[1]. A similar explanation may be applied unfailingly in the case of *Opsanus tau*[11] whose Hb had ever been reported to have also an undulant oxygen dissociation curve.

The log p_{50} (oxygen pressure at half saturation) *vs.* pH curves are shown in Fig. 4, in which the difference of the pH effect for both components is clear at a glance. Though above pH 7.8 the oxygen affinity for component F is superior to that for component S, below the pH the relation is reverse and moreover the curves become almost straight, the slope ($\Delta \log p_{50}/\Delta$ pH) for components F and S being -1.25 and 0.0, respectively. These values were found to remain unchanged essentially at higher concentrations of phosphate (refer to "Salt effect").

In this connection the modes of effect of CO_2 and lactic acid, which are regarded as main substances affecting blood pH in live bodies, were studied in other experiments. As far as expressed in the term of pH, they were quite the same as that in the case of phosphate buffer only.

2) **Salt effect** The effect of concentration of phosphate buffer was studied at pH 7.35. The effect for component F is shown in Fig. 5. As the molarity of phos-

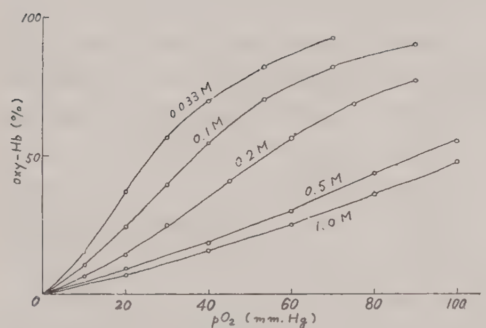


Fig. 5. The effect of the concentration of phosphate buffer on the oxygen dissociation curve of component F (pH 7.35, 15°C. .

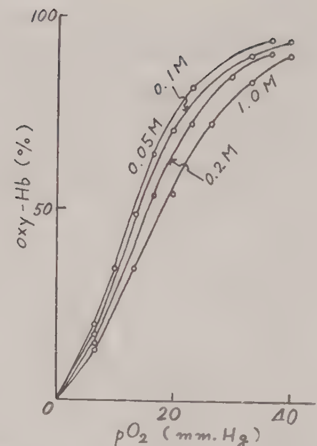


Fig. 6. The effect of the concentration of phosphate buffer on the oxygen dissociation curve of component S (pH 7.35, 15°C.).

phate buffer increases, the oxygen affinity decreases remarkably, but the curves are inclined to converge gradually. On the other hand, the salt effect on component S is far smaller (Fig. 6). The "n" value for component F was slightly lowered down to 2.0 at high concentrations, while "n" unchanged for component S.

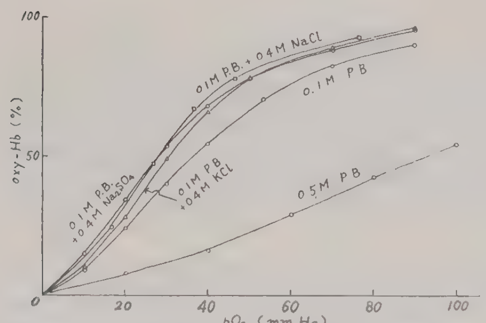


Fig. 7. The effects of some neutral salts on the oxygen dissociation curve of component F (pH 7.35, 15 C.). Each salt was added to phosphate buffer (P.B.), the final concentration of the former being 0.4 *M* and the latter 0.1 *M*.

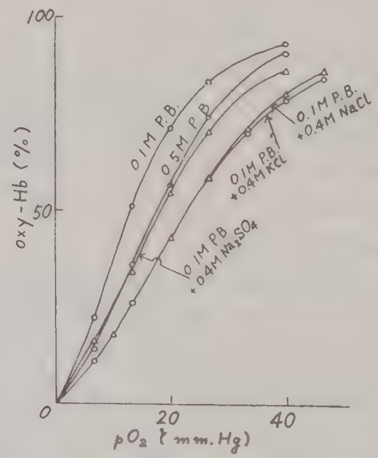


Fig. 8. The effects of some neutral salts on the oxygen dissociation curve of component S (pH 7.35, 15°C.). Refer to Fig. 7 for details.

Effects of other salts such as NaCl, KCl, and Na_2SO_4 were also investigated at pH 7.35, when each salt was added to phosphate buffer, the final concentration of the former and the latter being 0.4 *M* and 0.1 *M*, respectively. As seen in Fig. 7, the effects of all these salts on component F are very similar among one another and far

smaller compared with the effect of 0.5 *M* phosphate. Moreover, the dissociation curves shift to the left of that obtained with 0.1 *M* phosphate only. These are not the case with component S (Fig. 8): It is true that the extent of the effects compares well with the case of component F, but the dissociation curve with Na_2SO_4 overlaps practically that with 0.5 *M* phosphate only, beyond which the curve shifts somewhat to the right in the cases of the other salts. These results are not agreeable partly with those on human Hb[12] on which the effect of phosphate is most remarkable, followed by Na_2SO_4, and of NaCl or KCl to a far less degree. The "n" values for both components were not altered by the addition of these salts.

3) **Temperature effect** The effect was measured over the range from 5° to 35°C. at pH 7.4. The temperature effect on the hemolyzate is notable and the oxygen affinity decreases acceleratively as temperature rises (Fig. 9). The effect on component

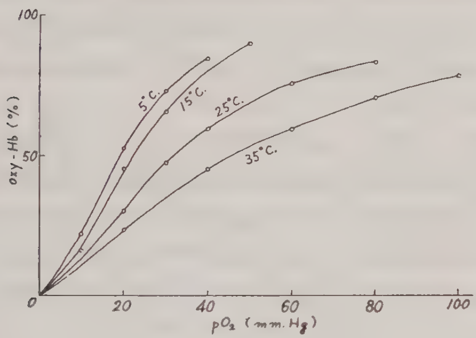


Fig. 9. The temperature effect on the oxygen dissociation curve of the hemolyzate (0.1 *M* phosphate buffer, pH 7.4).

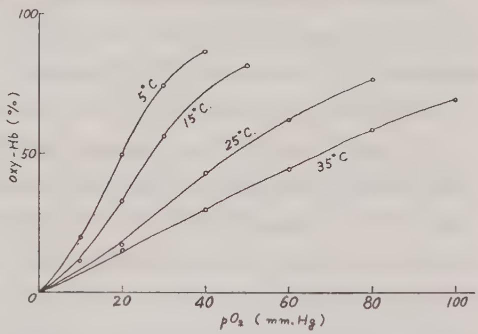


Fig. 10. The temperature effect on the oxygen dissociation curve of component F (0.1 *M* phosphate buffer, pH 7.4).

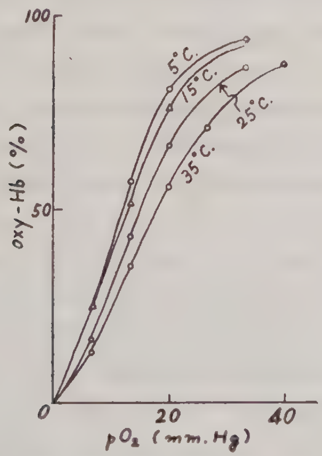


Fig. 11. The temperature effect on the oxygen dissociation curve of component S (0.1 *M* phosphate buffer, pH 7.4).

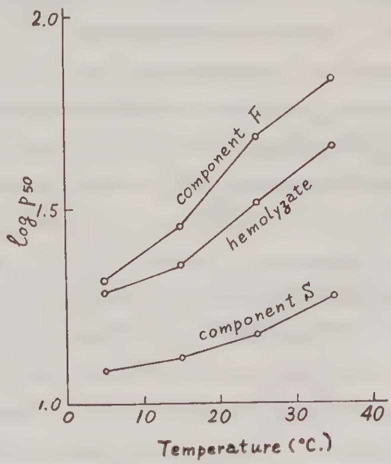


Fig. 12. The log p_{50} *vs.* temperature curves for both components and the hemolyzate.

F is more considerable, but tends to converge at higher temperature (Fig. 10). In passing, at a lower pH of 7.0 only a slight difference was observed between 25° and 35°C. The temperature effect on component S is far minor than on component F, as well as the other effects mentioned above (Fig. 11). The "n" value was unchanged on both components, except a slightly lower value at 35°C. on component F. In Fig. 12, the log p_{50} *vs.* temperature curves are shown for these three samples. The curve for the hemolysate is comparable with that for rainbow or brown trout.[13] Then the heat of oxygenation calculated from the slopes of these curves by the VAN'T HOFF's equation, is 2.6, 6.4 and 6.3 *kcal.* (hemolysate), 5.2, 7.2 and 6.3 *kcal.* (component F), and 1.1, 2.4 and 4.2 *kcal.* (component S), per mole oxygen for 10°, 20° and 30°C., respectively. These values are smaller more or less than those for manmalian Hb's[14], especially in the case of component S.

It was reported[15] that the oxygen dissociation curve of Hb solution is different somewhat from that of the suspension of red blood cells. The curve of the cell suspension is, however, not measurable for each component and all the measurements were carried out on Hb solution in the present study.

As mentioned above, component F shows a low oxygen affinity at physiological pH, p_{50} being *ca.* 30 *mm.* Hg, the value of which is larger conspicuously compared with Hb's of teleost fishes ever reported[16] which are all half-saturated below 20 *mm.* Hg. The oxygen affinity of this component is affected strongly by the pH change, the slope ($\Delta \log p_{50}/\Delta$ pH) being -1.25. This value is reminiscent of those of marine teleost fishes such as mackerel (-1.25), sea robin (-1.20) and scup (-1.32)[17].

In a striking contrast to component F, component S shows a relatively high oxygen affinity ($p_{50}=13$ *mm.* Hg) and the affinity is extremely insensitive to pH. Generally, Hb's of fresh-water fishes possess higher oxygen affinities (*e.g.*, carp's $p_{50}=5$ *mm.* Hg[18]) and is influenced to a less degree by pH than Hb's of marine teleost fishes. From these facts components F and S are comparable roughly with Hb of marine teleost fish and of fresh-water fish, respectively. It should be emphasized, however, that the pH effect-absent Hb such as component S is so unique that there is only one comparable Hb (tadpole[9]) in vertebrate so far as the authors know. In this connection the BOHR effect is known to be absent generally with muscle Hb or myoglobin, although this respiratory pigment is not present in blood. Moreover, the oxygen dissociation curve of component S is affected only slightly by the factors such as temperature and salt concentration. These facts are suggestive of, together with the fact that component S is fairly stable to heat or alkali and autoxidizable tolerably, the corresponding properties of myoglobin of vertebrate[19] including fish[20]. From this point of view component S may be comparable rather to myoglobin. By the way the authors could detect myoglobin in *Salmonidae* fishes even neither in lateral line muscle, nor in heart muscle, by the methods of absorption spectrum and electrophoresis[21]. Thus it may be guessed that component S might have the similar physiological significance to

myoglobin, though it circulates with component F in the blood of salmon; component S might be rather an oxygen reservoir, providing aganinst the time of oxygen lack such as so-called "Subashiri" (crawling on shallow of river) or probable other emergencies to which salmons may encounter while going up river, leaving component F the role of usual oxygen carrier.

The authors wish to examine by further experiments whether there is any relationship between the ecological specificity of salmon over both sea- and fresh-water and the characteristics of the blood containing two Hb's whose respiratory properties differ appreciably as described above.

It is alleged that experiments on the respiratory function of blood must be performed as quickly as possible, especially in the case of fish, within several hrs. at least after the sampling of the blood. Experiments with fresh blood were, however, impossible due to technical reasons: The place of blood sampling was so remote that it took more than half a day to transport the blood to the laboratory and more one day to isolate both components from the blood by electrophoresis. So there is an apprehension that the samples used in the present study might have undergone some changes. This apprehension seems however to be slight, if any, because results were reproducible enough and because each isolated component gave the almost same oxygen dissociation curve even after one-night-storage in ice as that before the storage, though the dissociation curves became gradually hyperbolic, p_{50} becoming less, after more than two-night-storage. Supplementary experiments will be performed on this point in the near future.

Summary

(1) Effects of pH, salt concentration, and temperature on the oxygen dissociation curve of the two components of chum salmon Hb were investigated.

(2) The effects of pH, phosphate concentration and temperature were much more remarkable on component F than on component S. The mode of effect of the other salts such as NaCl, KCl and Na_2SO_4 was also different between both components.

(3) Physiological significances of the existence of the two components were discussed.

The authors are grateful to Mr. H. Eguchi for his technical assistance in the course of this work. The expenses of this investigation were defrayed in part by a research fund granted from the Ministry of Education.

References

1) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **24**, 719 (1959).
2) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *Ibid.* **24**, 724 (1959).
3) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *Ibid.* **25**, 465 (1959).
4) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *Nature* **184**, 1418 (1959).

5) EGUCHI, H., HASHIMOTO, K., and MATSUURA, F.: *This journal* **26**, 810 (1960).
6) HASHIMOTO, K., and MATSUURA, F.: unpublished.
7) CUSHING, J. E., RIDGWAY, G. J., and DURALL, G. L.: *Biol. Bull.* **113**, 343 (1957).
8) MATSUURA, F., HASHIMOTO, K., and HARUTA, N.: *This journal* **24**, 730 (1959).
9) RIGGS, A.: *J. Gen. Physiol.* **35**, 23 (1951).
10) BENDITT, E., MORRISON, P., and IRVING, L.: *Biol. Bull.* **80**, 429 (1941).
11) GREEN, A. A., and ROOT, R. W.: *Biol. Bull.* **64**, 383 (1933).
12) SIDWELL, A. E., Jr., MUNCH, R. H., BARRON, E, S. G., and HOGNESS, T. R.: *J. Biol. Chem.* **123**, 335 (1938).
13) Calculated from IRVING, L., BLACK, E. C., and SAFFORD, V.: *Biol. Bull.* **80**, 1 (1941).
14) WYMAN, J., Jr.: *Adv. Prot. Chem.* **4**, 470 (1948).
15) HILL, R.: *Proc. Roy. Soc.* (*London*) **B 120**, 484 (1936).
16) PROSSER, C. L., *et al.*: "Comparative Animal Physiology", W. B. Saunders Co., Philadelphia (1950), p. 308.
17) Calculated from HALL, F. G., and MCCUTCHEON, F. H.: *J. Cell. Comp. Physiol.* **11**, 205 (1938).
18) BLACK, E. C., and IRVING, L.: *Tr. Roy. Soc. Can. Biol. Sci.* **31**, 29 (1937).
19) MILLIKAN, G. A.: *Physiol. Revs.* **19**, 503 (1939).
20) HASHIMOTO, K., and MATSUURA, F.: unpublished.
21) HASHIMOTO, K., and MATSUURA, F.: unpublished.

塗料原料とする魚油塩素化物の製造に関する研究—VIII.

ジ第三過酸化ブチルによる魚油の重合について

鈴　木　康　策

(1960 年 5 月 25 日受理)

PREPARATION OF A COATING MATERIAL BY CHLORINATION OF FISH OIL—VIII. POLYMERIZATION OF FISH OIL WITH DI-*T*-BUTYL PEROXIDE

Kosaku Suzuki*

As already reported, for the manufacture of fish oil into a chlorination product an oil after polymerization is rather suited, insofar as it remaines soluble in organic solvents, as compared with an oil before polymerization. In this point of view, the conditions that favor the polymerization were studied through experiments wherein a few kinds of fish oil were heated at 150～170°C under reflux in the application of di-*t*-butyl peroxide as polymerizing agent.

From the results obtained it was inferred that some volatile matters usually present in raw fish oil, including a small amount of water, are possible to obstruct the rise of reaction temperature and hence the advance of polymerization. This inference made a good hit when polymerization was actually carried out with success by using samples of fish oil previously well aerated with air and/or nitrogen gas.

Since aeration with air gave rise to increases of acid value and peroxide value, which also proved in this study to do no good to the polymerization, aeration with nitrogen is considered as a recommendable method of removing the volatile matters from the fish oil to be chlorinated.

高融点の魚油塩素化物の製造原料として，魚油をそのまま使用するより，重合油を使用する方が適切であることを前報[1]に述べた。

魚油の重合方法は多数あるが，多くは粘稠な液状の重合油を生成するにとどまり，難流動性のゼリー状の重合油や固化した重合油等を生成するには至らない。重合剤としてジ第三過酸化ブチルを用いると，粘稠な液状の重合油はもちろん，ゼリー状のもの，さらに固化したもの等各種の程度の重合油を生成することができるので，本試剤を用いて重合を行つた。この重合については前報において多少述べたが，二，三注意すべき点があるので，その検討結果を報告する。

実験および考察

I. ジ第三過酸化ブチルの使用量，重合温度について

ジ第三過酸化ブチルは市販パーブチルD（日本油脂 K. K. 製）を使用した。その説明書によれば，性質は Table 1 の通りである。

Table 1. Properties of "Perbutyl D".

Appearance	pale yellow or colorless liquid
Active oxygen	> 16.0%
Content of di-*t*-butyl peroxide	> 97.0%
Sp. gr. (17°C)	0.799
Boiling point	110°C
Flash point	> 0°C
Solubility	Insoluble in water, soluble in acetone, toluene, methanol, ethanol*

* Soluble in all proportions in most of common organic solvents.

* 東京水産大学沼津実習場 (Numazu Fish. Lab. Tokyo Univ. Fish., Numazu, Shizuoka Pref., Japan).

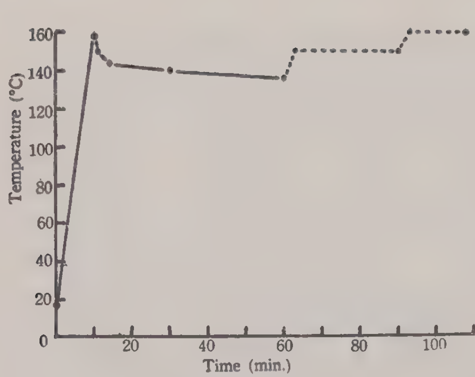


Fig. 1. Temperature change of the polymerization mixture heated under reflux. …… Temperature was adjusted by distilling off some volatile components from the mixture.

温度計，かくはん器，冷却器をつけた三ツ口フラスコにサメ油（酸価 1.94）80g，パーブチル D 15cc（サメ油重量の 15% に当る）を取り，かくはんしながら加熱すると，重合反応液の温度は Fig. 1 実線のように最高 158°C に達した後，急に降下し始め，1時間後も降下を続ける。もちろん加熱を強化しても降下するのであつて，つまり反応混合液の沸点が降下するのである。したがつて反応液の組成が変化しているわけであるが，1時間後も粘度の変化は明かでなく，この点から見てほとんど重合は進行しないようであつた。それで反応液の低沸点部を一部溜出せしめて，液の沸点を 150°C に上昇せしめた。同温度を保持するために，途中さらに少量の溜出を行う必要があつた。こうして 30 分経過してもなお粘度の変化が見られなかつたので，さらに溜出を行つて，液温を 160°C に上昇せしめ，15 分にして所望の重合油を生成した。この重合油はきわめて粘稠で，ほとんどゼリー状に近く，重合反応中，特に終末点直前においては激しいかくはんを続けないと，均一な重合油を得ることができない。この実験では終始 400～450 r.p.m. でかくはんした。重合終末点についていえば，余り重合し過ぎたものは固体重合物となり，溶剤に不溶になるので，終末点はその前に選ばなければならない。また余り低粘度のうちに中止すれば，重合を行う意味がなくなるので適当な粘度に達した時に中止することが必要であるが，重合反応中継続的に粘度を測定することは困難である。反応液が次第に粘稠化し，急に Weissenberg 効果を現わす時期が到来する。この変化はきわめて明瞭なので，この時期をもつて重合終末点とした。試料油の使用量，加熱要領を一定にした場合，重合剤の使用量，重合温度と重合所要時間との関係は Table 2 の通りである。この表で見ると，重合剤の使用量を試料油の重量 10% とした場合は重合困難で（たとえ重合可能であつても所要時間は著しく長くなると考えられる），実際には 15% 以上使用しなければならない。その場合は重合温度を上げることにより，所要時間を短縮することができるが，重合終末点附近では重合油が著しく粘稠となるため，かくはんが十分行われず，160°C の重合においても，一部器底に接する部分は過度に重合し易く，170°C の重合においてはなお一層不均一になると想像された。均一な重合油を得るために，終末点に近づいてからは重合の進行はむしろ緩徐な方が好ましい。しかし，150°C 以下では所要時間の延長がさけられないので，温度は 150°C を適当と考える。

Table 2. Time required for polymerization.

Temperature	"Perbutyl D" used		Polymerization	
	Volume (wt.)	Proportion to the oil	Time required	Yield
150°C	10cc (8g)	10%	>200 min.*	—
	15 〃 (12 〃)	15 〃	93 〃	82.4g
	20 〃 (16 〃)	20 〃	77 〃	84.0 〃
160°C	10 〃 (8 〃)	10 〃	>150 〃 *	—
	15 〃 (12 〃)	15 〃	52 〃	82.0 〃
	20 〃 (16 〃)	20 〃	48 〃	83.0 〃
170°C	10 〃 (8 〃)	10 〃	>150 〃 *	—

Every 80g of shark oil was used as sample in each run. The air bath was kept heated at 220°C after the temperature of reaction mixture rose from room temperature 20°C to the specified value in 6 or 8 minutes (which were taken in the polymerization time).
* Polymerization was not observed in this case.

パーブチル D の使用量は重合所要時間に影響するが，収量にはそれ程影響しない。重合反応の途中，1. に述べたように反応液の沸点が低下するので，所定の温度に保つためには液の低沸点成分を一部溜出しなければならないが，パーブチル D の沸点が 110°C (Table 1) で，反応温度がこれより高いため，未反応で残

存するパーブチルDが溜出し,これは反応に参加しなくなる。溜出液はジ第三過酸化ブチルの香気が強い。しかし,比重(18°C)が0.77〜0.78で,パーブチルDそのものでないことがわかる。このように重合反応の途中,反応液の一部溜出によつて反応温度を保つことは重合剤の損失を招き,かつ操作上も煩雑となり合理的でない。重合を封管内で行えば,温度低下の問題はないが,管壁に接する部分のみ重合が進み,中心部が遅れ,不均一な重合油を生成する。したがつて加圧かくはんしながら加熱重合を行うことが必要となるが,本実験ではその追求はやめて,別に反応液沸点の降下する原因を見つけ,常圧でしかも上記のように液の溜出を行うことなく,所定温度で重合することができた。これは後で述べる。

II. 酸化魚油の重合について

魚油は酸化を受け易いので,酸化油の重合の難易におよぼす影響を調べた。サメ油 100g を沸騰水浴上で加熱しながら,濃硫酸を通過させて乾燥した空気を流速 100〜110cc/分 で通気して酸化し,酸化油 20g を取り,重合剤としてパーブチルDを 4cc (3.2g, 16%) 加え,150°C で重合を行い,酸化油の酸価,過酸化物価,重合所要時間等を求めた結果は Table 3 に示す。この表によると通気酸化の進んだ油程,短時間で重合することがわかる。この実験においても重合温度 150°C を保つためには,先に述べたように一部反応液の溜出が必要であつたが,溜出量は No. 1(未通気)の場合最も多く,No. 2 においてはそれよりかなり少く,No. 3 の場合は溜出量が1滴に過ぎず,ほとんど溜出の必要がなかつた。酸価,過酸化物価の増大つまり魚油が酸化したために重合が容易になつたように見られるが,一方,試料油の通気によつて排気管壁に凝縮水滴が認められたので,油中に僅かに含まれる水分や,その他の揮発性成分が通気によつて除去されることをも重合に影響する原因として考えてみなければならない。こういう除去量は,除去が未完了のうちは当然通気時間の長い程大となるから,表中 No. 2 より No. 3 の方が完全除去に近いわけである。このことと150°C の重合温度を保持するのに No. 3 の場合は反応液をほとんど溜出する必要がなかつたということを考え合わせるならば,反応液の温度(沸点)が反応中次第に降下するのは試料油中に揮発性成分が混在するからであると考えられる。それで重合前に揮発分を油から完全に除去しておけば重合途中 Fig. 1 に示したような温度降下もなく,したがつて所定の重合温度を保つために,今まで行つたような反応液の一部溜出除去という不便な操作もさけられる。No. 3 の油はこれに近い状態のものであると思われる。No. 3 の油に少量の水を加えたものは No. 4 のように重合所要時間が延長された。このようにして封管内で行わなくても,常圧で十分重合油を生成することができると考えられた。

Table 3. Oxidized shark oil and its polymerization.

No.	Shark oil			Polymerization	
	Aeration time	Acid value	Peroxide value*	Time required	Yield
1	0 min.	1.94	0cc	75 min.	110%
2	70 〃	2.09	0.15cc	61 〃	112 〃
3	370 〃	2.30	0.85 〃	54 〃	110 〃
4	〃	〃	〃	64 〃	110 〃

* cc of 0.1 N sodium thiosulfate corresponding to one gram of oil. In case of No. 4, oil of No. 3 was used with addition of water by 0.075%.

An air bath for heating the reaction mixture (oil 20g plus "Perbutyl D" 3.2g) was kept at 220〜200°C.

Reaction temperature was 150°C.

重合を容易にする条件として,上記の揮発分除去の外に試料油の酸化つまり酸価,過酸化物価の増大も考慮すべきであるかどうかについて考えて見るのに,試料油に空気のかわりに窒素のような不活性ガスを通気すれば,揮発分を除去するだけで油を酸化しないはずである。そこで,貯蔵中自然に酸化したメカジキ油を用いて,Table 3 と同様に実験したところ,Table 4 の結果を得た。その No. 1, 2, 3 を見てわかるように,窒素通気により,魚油の酸価,過酸化物価が減少した。しかし,No. 1 と 2 の間ではこれらの差が大きいにもかかわらず,重合所要時間は違わない。No. 2 と 3 の間における酸価,過酸化物価の差は No. 1, 2 の場合より遙かに小さいが重合所要時間が短かくなつた。No. 3 の窒素通気時間は9時間で No. 2 より非常に長い。Table 4 においては酸価,過酸化物価が減少して重合所要時間が短縮され,Table 3 においてはそれらの価が増大して重合所要時間が短縮された。ただ通気時間が長い場合に重合所要時間が短かくなるとい

Table 4. Effect of aeration with nitrogen on the polymerization of a sword fish oil which had autoxidized in storage.

No.	Sword fish oil				Polymerization		
	Aeration time Nitrogen	Aeration time Air	Acid value	Peroxide value	Time required	Yield	A part of the mixture was (+) or was not (−) distilled off*.
1	0 hr.		16.9	0.54cc	42 min.	112.5%	+
2	2 〃		14.6	0.25 〃	42 〃	110.0 〃	+
3	9 〃		13.6	0.15 〃	40 〃	110.0 〃	−
4		8 hr.	14.4	1.05 〃	36 〃	110.0 〃	−
5		5 〃	17.4	0.75 〃	42 〃	110.0 〃	−

Polymerization was carried out according to the case of Table 3. The sample oil No. 4 was prepared by aerating the oil No. 3 which was previously aerated with nitrogen. No. 5 was an oil sample aerated only with air.

* To keep the reaction mixture from cooling down to a temperature lower than 150°C (reaction temperature), it was necessary to distill off a small portion of the mixture.

うことが共通である。Table 4 においても No. 5 では酸価，過酸化物価が増大しているが重合所要時間が短縮されなかつたのは通気時間が短かすぎて試料油中の揮発分の除去が不十分であつたためと思われる。また，No. 3 の試料に引続いて空気を通気した No. 4 の場合は酸価，過酸化物価が増大し重合所要時間が短縮された。以上のような実験結果を見てくると，魚油の酸価，過酸化物価の増加や減少は重合所要時間に関係しないものと判断しなければならない。重合所要時間は油中の揮発分が十分除かれた場合に短縮されるのである。単に重合所要時間の短縮という点だけを考えるならば，揮発分を除去するのに空気を通気しても窒素を通気しても支障はないが，空気通気は油を汚く着色し，不要な酸化を招くので，窒素通気の方が適切だといえる。

なお，Table 3 と 4 とを比べると，重合所要時間は 4 の方が遙かに短かい。Table 4 の方は試料油が自動酸化していて，Table 3 の試料油より一見して明瞭な程粘度が著しく大であり，すでに自然に幾分重合していたように見うけられた。Table 3 の試料油は採油後 10 日以内のもので，Table 4 の試料油のような変化はまだ受けていない。故に，これら魚油の重合所要時間の長短は魚種の差異よりもむしろ上記の点すなわち既存重合の差異に基因するものと考えられる。

総　　括

塩素化原料としての魚油はある程度重合させた後に使用することが好ましいので，ジ第三過酸化ブチルを重合剤として用いた場合の重合条件を検討した。空気または窒素通気した魚油の酸価，過酸化物価，重合所要時間の関係から，魚油は重合反応を行う前に揮発性物質を十分除去しておくことが高融点塩素化物の製造には必要であることを推論し，かつ実験的に証明した。なお揮発分の除去は魚油の酸化をさける意味において空気よりも窒素のような不活性ガスの通気によつて行う方がよいということを指摘した。

終りに東京工業大学舟木教授に対し御指導を厚く感謝致します。

文　　献

1) 鈴木康策：本誌，**26**，508 (1960).

魚肉ソーセージの香辛料について

清水　亘・金森邦夫

(1960年6月16日受理)

INFLUENCES OF NATURAL SPICE AND ITS POWDERED ESSENCE ON THE QUALITY OF FISH SAUSAGE

Wataru SIMIDU* and Kunio KANAMORI**

The influences of natural spices and their powdered essences on the quality of fish sausage were compared with each other. It was found that a large number of bacteria observed in fish sausage may be attributed to bacteria contained in a large amount in natural spices. The natural spices make color of sausage dark owing to their own pigments.

It was hard to notice the difference in quality between sausages mixed with natural spices and their essences. But it seemed that the spice essence is rather preferred to natural spice.

The appropriate amount of powdered essence spices was found to be one-tenth or one-seventh of natural spices.

魚肉ソーセージがかまぼこと異なる主な点は香辛料を使用することもその一つである。それによつて魚臭を消し，さらに新たに芳香と辛味を加えて，ソーセージらしい食感を出そうとするのがねらいである。しかし天然香辛料は，微粉状にして使用するのではあるが，それにもかかわらず水を吸収して膨化し，製品の切口に黒斑点となつて目立ち，見苦しく，それほど目立たない場合でも，多少とも製品の色を暗色化する欠点がある。また天然香辛料には多数の雑菌が付着し，ことに大多数の香辛料は熱帯産であるから，耐熱性の細菌が含まれ，それが魚肉ソーセージを汚染して腐敗せしめる機会を与えると考えられる。

そこで天然香辛料の有効成分を有機溶媒で抽出しようとする企てが行なわれている。そうすれば製品の着色もまぬがれ，細菌による汚染のおそれもほとんどなくなるわけである。さらに最近ではこれを粉末化する新しい加工法が現われ，粉末エッセンス† が作られるようになつた。ただこれらのエッセンス製品は抽出中に有効成分の一部が消失あるいは変化し，天然のままの香味と多少かけ離れたものになり，ある場合には，いわゆる“薬くさい”異臭を伴うようになるので，その使用法には，じゆうぶんの注意が必要である。

本報はこの粉末エッセンスを魚肉ソーセージに使用した場合に，製品の貯蔵性および食味にどのように影響するかを試験した結果の報告である。いずれも天然香辛料と比較し，またその使用濃度についても検討を行つた。

I. 細菌検査

細菌検査に使用した天然香辛料は三洋貿易その他を通じて購入した，きわめて新鮮なものである。オニオンだけは理研化学工業のものを使用した。粉末エッセンスは高田香料のドライコート・スパイス(dry-coat spice) を用いた。

---

* 京都大学農学部水産学教室 (Dept. of Fish., Kyōto Univ.).

** 高田香料株式会社 (Takata Kōryō Co. Ltd.).

† これは天然香辛料を有機溶媒で抽出した液体をアラビヤゴム等のコーチング剤とともに噴霧乾燥した製品である。

(印刷費負担)

試料 1g を 10ml の減菌生理的食塩水に懸濁し，その 1ml をシャーレに取り，同じく 1ml を 10ml の生理的食塩水で稀釈し，その 1ml をシャーレに取る操作を繰り返えした。これに 5ml の加熱溶解した普通ブイヨン寒天培養基を流しこみ，よく振つて静置し，寒天が固まつたら反転して 30°C の恒温器に 24～48 時間培養し，コロニーの数を計測した。培養基は肉エキス 60g，ペプトン 60g，食塩 36g を 12l の水に溶解し，これに 240g の寒天を溶解し，pH 7.0 に調整し，綿栓して 15lb，1時間減菌加熱した。これを試験管に分注し，15lb，1時間減菌加熱した。なお細菌数の測定は香辛料各種目ごとに 2～3 系列を平行して行ない，検査の正確を期した。

Table 1. Bacterium number contained in 1g of natural and dry-coat spices (extracted and powdered spices).

Species		Bacterium number	
Japanese name	English name	Natural spice	Dry-coat spice
シロコショウ　白胡椒	White pepper	$3\cdot10^5$	10
タマネギ　玉　葱	Onion	$5\cdot10^4$	$5\cdot10^2$
ショウガ　生　薑	Ginger	$3\cdot10^5$	10
ケイヒ　桂　皮	Cinnamon	$4\cdot10^3$	10
クールスパイス	Allspice	$4\cdot10^6$	10
チョウジ　丁　香	Clove	10^6	0
タイム	Thyme	$3\cdot10^4$	0
セージ（サルビヤ）	Sage	$2\cdot10^5$	10
ニクヅク　肉豆蔻	Nutmeg	$3\cdot10^3$	10
メース	Mace	$2\cdot10^4$	10
ローレル　月桂葉	Laurel (Bay-leaf)	$3\cdot10^5$	10
コズイシ　胡荽子	Coriander	$5\cdot10^5$	10
イノンド　蒔　蘿	Dill	–	10
セロリー	Celery	$3\cdot10^5$	10
カルム　姫茴香	Caraway	—	10

試験結果は Table 1 のとおりである。これでみると，天然香辛料には 1g 中 10^4～10^6 程度の細菌が含まれ，ことにオールスパイスおよびクローブにはとくに多い。これに反して粉末エッセンスは多いもので 10^2 級が1例，その他は 10 あるいは 10 以下，なかには完全無菌のものさえある。念のため他社（高砂香料）の製品（スパイス・ミクロン）についても試験したが，やはり同様の結果が得られた。

香辛料は一般にそれ自身に多かれ少なかれ静菌力を有し，稀釈度の低い場合には細菌の繁殖がほとんど見られないものが多く，10^2～10^3 稀釈において最大菌数が数えられた。これは粉末エッセンスの場合でも同様で，とくにクローブおよびタイムの粉末エッセンスには細菌がまつたく見出されなかつた。ただオニオンだけは天然，粉末エッセンスともに，10 倍稀釈において細菌の繁殖がみられた。オニオンの静菌力が弱いためであろうか。

II. 魚肉ソーセージ貯蔵中の細菌数の変化

天然香辛料および粉末エッセンスに含まれる細菌数に差があるとすれば，それを実際に魚肉ソーセージに添加したとき，細菌数の差が製品の貯蔵性に影響すると考えられる。その影響をみるために，つぎの試験を行つた。

クロカワカジキ 15，メバチ（亜硝酸ソーダ 0.02%，アスコルビン酸ソーダ 0.2% 処理）40，キングチ 10，豚脂肉 15，でんぷん，水各 10 の割合ですり身を作り，このすり身 100 に対し，食塩 2.5，砂糖 0.2，シュガロン 0.01，味の素 0.4，タリンサン 0.1，ネオフラスキン 0.05 を添加し，これを四分し，その2組にはコショウ，オニオン，ナツメーグ，シンナモン，セージ，ローレル，ジンジャーの混合物を 10kg につき 110g を，他の2組には粉末エッセンスを，それぞれ 11g および 22g づつ添加し，クレハロン・ケーシングに詰め，パッカー（大森機械工業製）で密封し，85°～90°C で 60 分間加熱した。冷却後 30°C に貯蔵し，1週間ごとに1本づつにつき細菌数その他を測定した。細菌数の測定は前記香辛料中の細菌数の測定法に準じて行つた。

その結果は Table 2 のとおりである。細菌数は明らかに天然香辛料を使用したものに多い。そして日が経つにしたがつて両端むすびめ近くにおいて細菌数が増加する傾向がみられる。これは密封が不完全なこと

Table 2. The change of bacterium number in fish sausages, added with natural or extracted and powdered spices, in various storage periods at 30°C.

Storage period	Kind of spice	Bacterium number Center portion	Bacterium number End portion
7 days	Natural	$2\cdot10^2$ $4\cdot10^3$	$2\cdot10^2$ $4\cdot10^3$
	Extractive	0 10	10 10
14 days	Natural	$3\cdot10$ $5\cdot10^2$	10^2 10^2
	Extractive	0 10^2	$2\cdot10$ 10^2
21 days	Natural	0 $3\cdot10^2$	$9\cdot10^4$ 10^4
	Extractive	$3\cdot10^2$ 10	$3\cdot10^2$ 0
28 days	Natural	10 $2\cdot10^2$	0 ∞
	Extractive	0 10	0 $3\cdot10$
35 days	Natural	$3\cdot10^2$ $3\cdot10^2$	10^5 10^5
	Extractive	10^2 10	0 10^2
42 days	Natural	10 10^2	10^3 10
	Extractive	0 0	0 0

を示すものであろう。数字にばらつきがあるのは，個体差に因る誤差で，とくに密封程度は個体によつて大差があるようにみえる。

細菌数のほかに pH，総酸，および揮発性塩基窒素を測定したが，この試験では殺菌がよく行われたためか，貯蔵中の変化はほとんどみられなかつた。そして pH は 6.0，総酸は乳酸換算で 0.7%，揮発性塩基窒素は 10～20 mg% 程度であつた。したがつて香辛料中の細菌が必ず腐敗の原因になるとは限らないようであるが，生残り細菌数が多ければ，それだけ腐敗の機会が増すものと考えなければならない。

III. 官能試験

前々も述べたように粉末エッセンスは天然香辛料の有効成分を抽出した製品であるが，その香味は必ずしも天然そのままと同じでない。したがつてこれを魚肉ソーセージに添加したものが消費者の嗜好に合うかどうかを検討する必要がある。この目的でつぎの試験を行つた。

クロカワカジキ 23，メバチ（亜硝酸ソーダ 0.02%，アスコルビン酸ソーダ 0.2% 処理）40，豚脂肉 10，でんぷん 12，豚皮 5，水 10 の割合ですり身を作り，その 100 に対し食塩 3，砂糖 0.25，シュガロン 0.04，味の素 0.4，タリンサン 0.1，ネオフラスキン 0.05，および少量の木酢を添加して魚肉ソーセージを作つた。これを三分し，その 1 組には天然香辛料を，一般使用基準に準じて 0.7%（これをAとする），他の組には粉末エッセンスをそれぞれ 0.1% および 0.07%（これを B および C とする）を添加した。粉末エッセンスの使用量は経験的にこの程度，すなわち天然香辛料の 1/10 ないし 1/7 とみられている。使用香辛料の種類はコショウ，オニオン，ナツメーグ，シンナモン，オールスパイス，タイム，およびローレルである。

製造の日から 5 日目に試験を開始し，毎日 1 回づつ 4 日間行つた。試験はすべてペアテスト方法により，3 種類の試料を 2 種類を種類づつ組み合わせ，試験者の好みに応じてそのいずれかを選択させた。試験項目は色調，匂い，味，および総合的食感の 4 項目とした。パネルメンバーは京大水産化学研究室の研究員 10 人を選び，それを 5 人づつ α，β の 2 組に分け，順序効果を減殺するために試料の提出順を互に逆にし，また毎日各ペアの提出順を無作為に変えた。試験は 4 日間にわたつたのであるから，試料の各組み合わせごとに各人 4 回づつ，10 人で延べ 40 回試験したことになる。

パネルメンバーは男 8 人，女 2 人，年齢は 17～38 才である。各メンバーには試料の調製方法，試験の組み合わせ，その配置順，その他について全然予備知識を与えないように注意した。メンバーには 1 人づつ，毎日同じ場所で，午前 10 時から午後 2 時の間に試験させ，2 種類のうち好むほうへ ○ をつけさせた。

試験結果は Table 3 のとおりである。この結果の有意性を考察するため，5% 危険率を見込めば，α，β 各組とも判定回数 20 であるから，χ^2 検定により，15 以上の ○（良）が得られたものだけが有意と判定され，2 組の合計では判定数が 40 であるから，27 以上の ○ が必要である。表中＊印を付けたものがそれに該当する。これからみると，色の点では疑いもなく粉末エッセンが優り，これはむしろ当然といえる。香味においては，はつきりした結果は得られず，したがつて，どちらでも嗜好に大差がないと思われるが，β 組

Table 3. The result of sensory test of fish sausage, comparing natural and dry-coat spices.

Panel and (its member)	Testing number	Pair of sample	Color	Ordor	Taste	Palatability
α (5)	4	A	3	15*	14	14
		B	17*	5	6	6
		A	4	13	14	10
		C	16*	7	6	10
		B	11	14	11	12
		C	9	6	9	8
β (5)	4	A	0	7	4	4
		B	20*	13	16*	16*
		A	0	5	5	2
		C	20*	15*	15*	18*
		B	17*	12	11	14
		C	3	8	9	6
α+β (10)	8	A	3	22	18	18
		B	37*	18	22	22
		A	4	18	19	12
		C	36*	22	21	28*
		B	28*	26	22	26
		C	12	14	18	14

* Significant at 5% level.
A: Fish sausage with 7.0g of natural spices per kg.
B: Fish sausage with 1.0g of dry-coat spices per kg.
C: Fish sausage with 0.7g of dry-coat spices per kg.
Spices used were pepper, onion, nutmeg, cinnamon, allspice, thyme and laurel.

の判定，および，とくに総合的食味において粉末エッセンスのほうが優つているような傾向がみられる。しかしα組において匂いの点で天然香辛料が優るという結果も出ているので，天然香辛料を好む者もあるということに留意すべきであろう。これに反して味ではβ組において天然香辛料が好まれないという結果になつているが，これは天然香辛料に，ある種の異味が含まれているためであろうか。粉末エッセンスの使用量は天然香辛料の 1/10 でもよさそうであるが，1/7 のほうがやや優るようにみえる。

要　　約

香辛料の有効成分を抽出し粉末化した製品を魚肉ソーセージへ使用した場合，天然香辛料との優劣を比較した。

（1） 天然香辛料には細菌の付着が多く，それが魚肉ソーセージを汚染する原因になる。

（2） 天然香辛料は魚肉ソーセージの色を暗色化するが，粉末エッセンスはそれがないため，製品の色を美しく保つ。

（3） 香味はいずれとも判断しにくいが，どちらかといえば粉末エッセンスのほうが好まれる傾向がみられた。

（4） 粉末エッセンスの使用量は天然香辛料の 1/10～1/7 が適するようである。

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries Vol. 26, No. 8, 1960

食品防腐剤に関する研究—II.

ある種の防腐剤および抗生物質の *Proteus morganii* に対する発育阻止およびヒスタミン産生能におよぼす影響

興 津 知 明

(1960 年 6 月 29 日受理)

STUDIES ON FOOD PRESERVATIVES—II.

A POSSIBILITY TO PREVENT THE ALLERGY-LIKE FOOD POISONING BY THE AID OF FOOD PRESERVATIVES OR ANTIBIOTICS

Tomoaki Okitsu*

Inhibitory action of some food preservatives and antibiotics, nitroflazone (NFS), nitro-furylacrylic amide (NFA), chlortetracycline (CTC) and oxytetracycline (OTC), on the growth and histamine formation of *Proteus morganii*, the causative organism of allergy-like food poisoning, has been studied.

Results obtained may be summarized as follows:

1. The growth of seven strains of the organisms occurred with essentially the same concentration of eiter NFS, NFA or CTC in nutrient broth. A single strain showed a fairy high sistance in respect to OTC.

2. The minimal growth inhibitory concentration tested in the flat-fish infusion and in the mackerel infusion were approximately the same.

3. Effect of NFS, NFA, CTC or OTC in the broth upon the formation of histamine by *Proteus morganii* was in parallel with that upon the growth.

4. The formation of histamine in the raw mackerel flesh suspension was inhibited by CTC, OTC or NFA in much low concentration as compared with the minimal growth inhibitory concentration of each drug.

The possible replacement in microbial flora in raw flesh suspension with resistant organisms has been discussed.

ま え が き

著者は先に第 I 報[1]において，現在日本において法的に使用を許可されている食品防腐剤 13 種ならびに CTC, OTC 等の抗生物質について，細菌約 10 種に対する最小発育阻止濃度を検討し，さらに培養温度，pH の変化および糖の添加が最小発育阻止濃度におよぼす影響につき検討を行つた。その結果食品防腐剤の中最も効果のあるのはニトロフリルアクリル酸アミド，ニトロフラゾーンであり，パラオキシ安息香酸ブチルエステル，メチルナフトキノン等がこれについだ。また以西トロール，以西機船底曳および母船式さけ・ます漁業等において薬品氷として使用許可されているクロルテトラサイクリン**および未だ許可はされていないがオキシテトラサイクリンは，ともに相当低濃度において供試細菌の発育を阻止した。

一方水産食品でしばしば起るアレルギー様食中毒について，その原因細菌は *Proteus morganii* とされている。この菌についてはすでに種々の検討がなされ，ヒスチジン脱炭酸酵素については河端・鈴木[2),3)]に

---

* 埼玉県衛生研究所 (Saitama Pref. Hyg. Lab., Omiya, Saitama Pref.. Japan).
** 昭和 35 年 5 月 10 日厚生省告示第 128 号により一部改正。 (印刷費負担)

より検討が行われている。前報で記載したように，許可防腐剤中 *in vitro* において *Proteus morganii* の発育を法定濃度以下で阻止できたのはニトロフリルアクリル酸アミドのみであつた。元来細菌性食中毒の防止は，食品の取扱いを清潔にしあるいは低温にて菌の増殖を防ぐことを主眼とすべきであつて，薬物の使用はあくまで補助的なものではあるが，現在のように各種の防腐剤の使用が認められているからには実際に使用されうる食品防腐剤等の存在下で *Proteus morganii* がいかに発育を阻止されるかを観察し，アレルギー様食中毒防止の可能性を検討することは食品衛生上充分意義を有すると考えて本研究を行つた。

実　　験

実験 1. *Proteus morganii* の菌株による最小発育阻止濃度の差

1. 基礎培地

マサバの肉エキス（河端・鈴木の報告[2]と同様の方法で作成)。最終 pH 6.12

2. 供試菌株

Proteus morganii, TU-2[2]
〃　〃　TU-6[2]
〃　〃　Okoshi-33_1[2]
〃　〃　S-1[1]
〃　〃　S-14[1]
〃　〃　♯ 71[2]
〃　〃　No. 325 (北里研究所から分譲)。

3. 供試防腐剤および抗生物質

NFS (nitrofurazone)
NFA (5-nitro-2-furfarylacrylic amide)
CTC (chlortetracycline)
OTC (oxytetracycline)

4. 実験方法

基礎培地が異なる他はほぼ第 I 報・実験 1 に準じて行つた。培養温度は河端・鈴木の報告[3]による *Proteus morganii* のヒスナジン脱炭酸酵素形成至適温度である 25°C を用いた。

5. 実験結果

NFS, NFA では 72 時間，CTC, OTC では 24 時間培養後における最小発育阻止濃度で示した結果は Table 1 に示す通りである。 OTC における No. 325 株を除いては供試 4 種の薬剤の最小発育阻止濃度は菌株間に大きな差異は認められず，殊に NFA はほとんどの菌につき同一濃度で発育を阻止した。

Table 1. Variation in the Minimal Growth Inhibitory Concentration of NFS, NFA, CTC and OTC by Various Strains of *Proteus morganii.*

Bact. ＼ Drugs	NFS (M)	NFA (M)	CTC (ppm)	OTC (ppm)
Proteus morganii, TU-6	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	1.3	1.3
〃　〃　TU-2	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	1.3	1.3
Okoshi-33_1	1.3×10^{-4}	3.1×10^{-5}	2.5	1.3
S-1	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	2.5	1.3
S-14	5.0×10^{-4}	3.1×10^{-5}	2.5	1.3
♯ 71	2.5×10^{-4}	6.2×10^{-5}	2.5	1.3
No. 325	1.3×10^{-4}	3.1×10^{-5}	5.0	20

実験 2. 基礎培地に用いる魚種が *Proteus morganii* の最小発育阻止濃度におよぼす影響

1. 基 礎 培 地

（1） マサバ肉エキス： 実験1に同じ。

（2） マガレイ肉エキス： マサバ肉エキスと全く同様の方法により作成。最終 pH 6.20

2. 供 試 菌 株

Proteus morganii, Okoshi-33_1

〃 〃 S-1

〃 〃 No. 325

3. 供試防腐剤および抗生物質

実験1に同じ。

4. 実 験 方 法

実験1に同じ。

5. 実 験 結 果

結果は Table 2 に示すごとくであり，全体として培地による差はほとんどないといえよう。

Table 2. Comparison of the Minimal Growth Inhibitory Concentrations in Mackerel Infusion to those in Flat-fish Infusion.

Bact.	Drugs / Species of fish	NFS M	NFA M	CTC ppm	OTC ppm
Proteus morganii Okoshi-33_1	Mackerel (*Scomber japonicus*)	1.3×10^{-4}	3.1×10^{-5}	2.5	0.62
	Flat-fish (*Limanda angustirostris*)	1.3×10^{-4}	3.1×10^{-5}	2.5	0.31
〃 〃 S-1	Mackerel	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	2.5	1.3
	Flat-fish	2.5×10^{-4}	3.1×10^{-5}	5.0	1.3
〃 〃 No. 325	Mackerel	1.3×10^{-4}	3.1×10^{-5}	5.0	20
	Flat-fish	5.0×10^{-4}	3.1×10^{-5}	10	20

実験 3. サバ肉エキス中における *Proteus morganii* のヒスタミン産生能におよぼす防腐剤等の影響

1. 供 試 菌 株

Proteus morganii, S-1

2. 供試防腐剤および抗生物質

実験1に同じ。

3. 実 験 方 法

実験1と同様に作成したサバ肉エキスに防腐剤等を添加したもの各 100cc に，別にサバ肉エキスに 25°C で3日間継代培養した菌液（18 ないし 20 時間培養のもの）を生理的食塩水を用いて1万倍に稀釈し（菌数 79×10^3/cc），その 1cc を移植して 25°C に放置し，一定時間毎に混濁の有無を観察するとともに 10cc づつ採取し，河端[4] の方法によりヒスタミンを測定した。

4. 実 験 結 果

ヒスタミン量は原料魚肉に対する mg％ に換算した。結果は Fig. 1 に示す通りである。また混濁の程度は静置培養のため比濁計によらず肉眼的に観察したが，± の程度でヒスタミン 1～10mg，＋ で 10～100 mg％，卄 で 100mg％ 以上であり，菌の発育とヒスタミンの産生は平行的であつた。

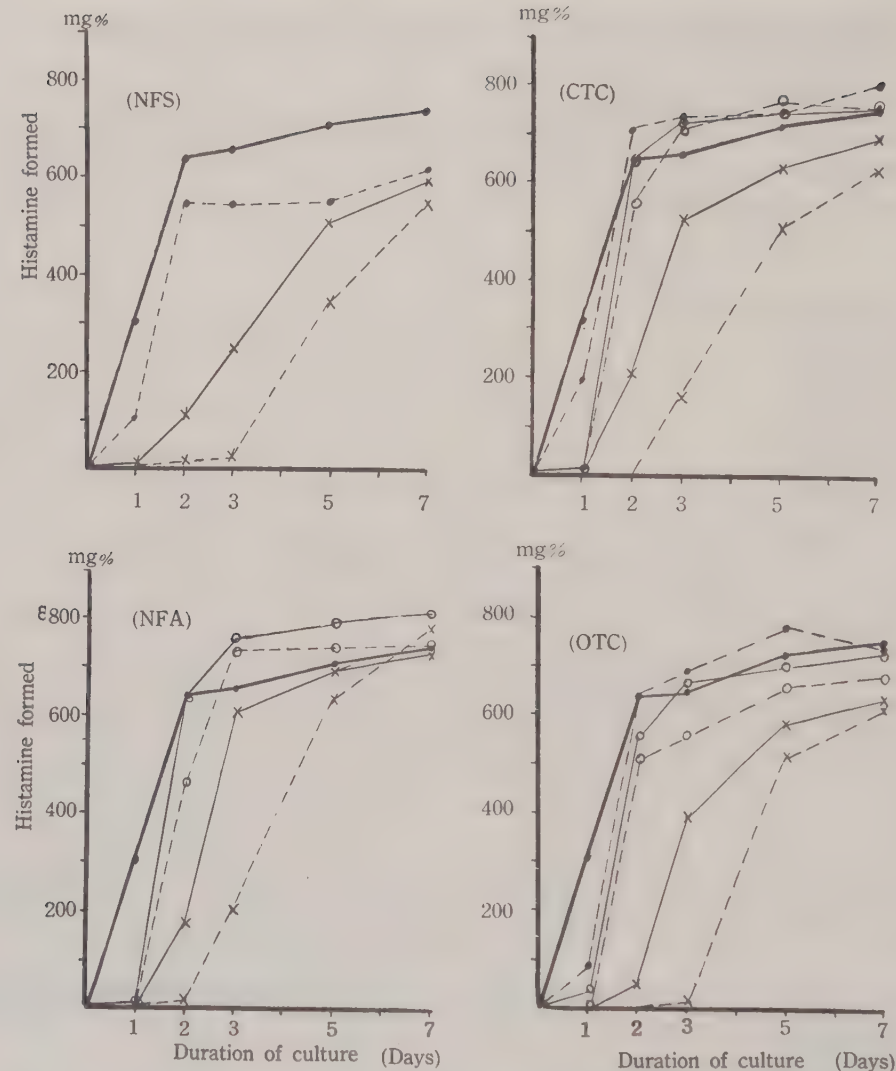


Fig. 1. Effect of Addition of Some Food Preservatives or Antibiotics upon the Rate of Formation of Histamine in the Fish Infusion Medium.

Note:

NFS
- ●——● Control
- ●- - -● Permis. conc.
- ×——× 6.3×10^{-5}M
- ×- - -× 1.3×10^{-4}M

NFA
- ●——● Cnotrol
- ○——○ 1.9×10^{-6}M
- ○- - -○ 3.9×10^{-6}M
- ×——× 7.8×10^{-6}M
- ×- - -× 1.5×10^{-6}M

CTC
- ●——● Control
- ●- - -● 2.5 ppm
- ○——○ 5.0 ppm
- ○- - -○ 10 ppm
- ×——× 20 ppm
- ×- - -× 40 ppm

OTC
- ●——● Control
- ●- - -● 0.31 ppm
- ○——○ 0.62 ppm
- ○- - -○ 1.3 ppm
- ×——× 2.5 ppm
- ×- - -× 5.0 ppm

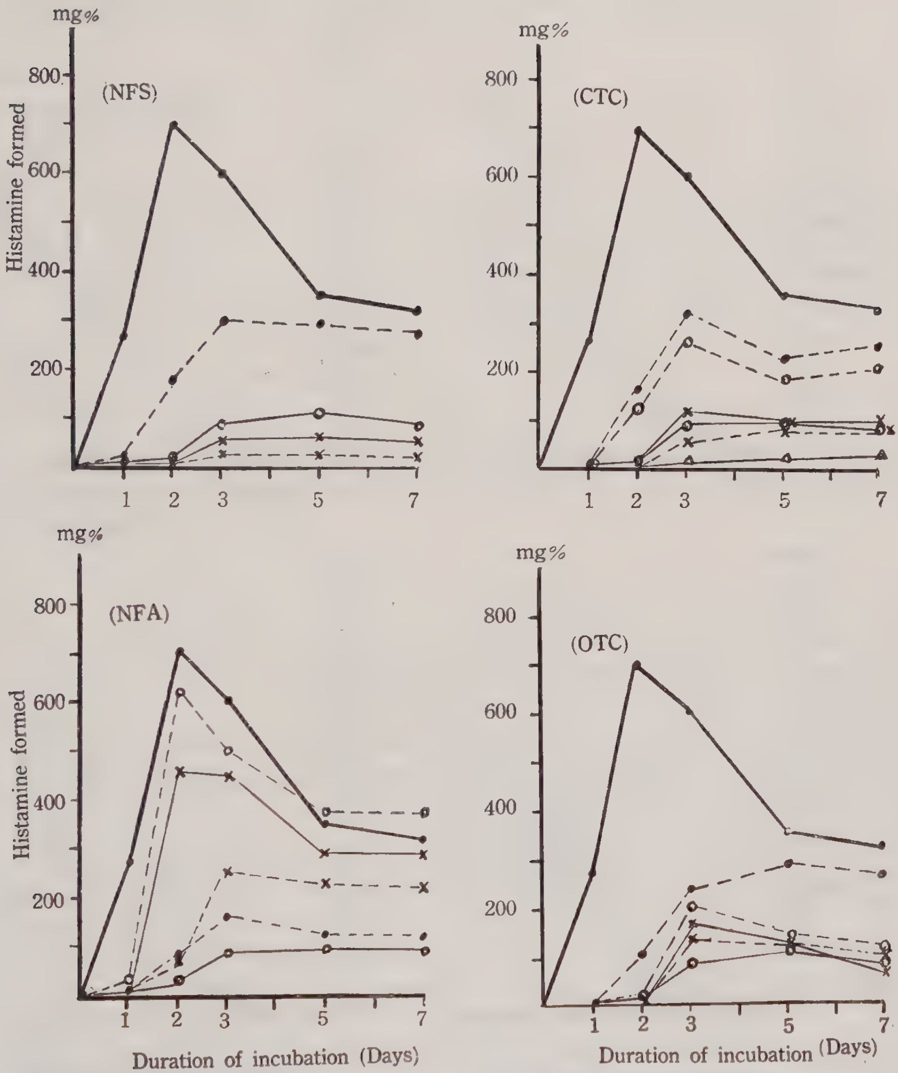


Fig. 2. Effect of Some Food Preservatives or Antibiotics added to Fish Suspension upon the Rate of Formation of Histamine.

Note:

NFS	●——●	Inoculated control	CTC	●——●	Inoculated control
	○——○	Non-inoculated control		○——○	Non-inoculated control
	●---●	Permis. conc.		●---●	0.15 ppm
	×——×	6.3×10^{-5} M		○---○	0.31 ppm
	×---×	1.3×10^{-4} M		×——×	0.62 ppm
				×---×	1.3 ppm
				△——△	2.5 ppm
NFA	●——●	Inoculated control	OTC	●——●	Inoculated control
	○——○	Non-inoculated control		○——○	Non-inoculated control
	●---●	Permis. conc.		●---●	0.15 ppm
	○---○	1.5×10^{-5} M		○---○	0.31 ppm
	×——×	$3.1\times10_{-}^{5}$ M		×——×	0.62 ppm
	×---×	6.2×10^{-5} M		×---×	1.3 ppm

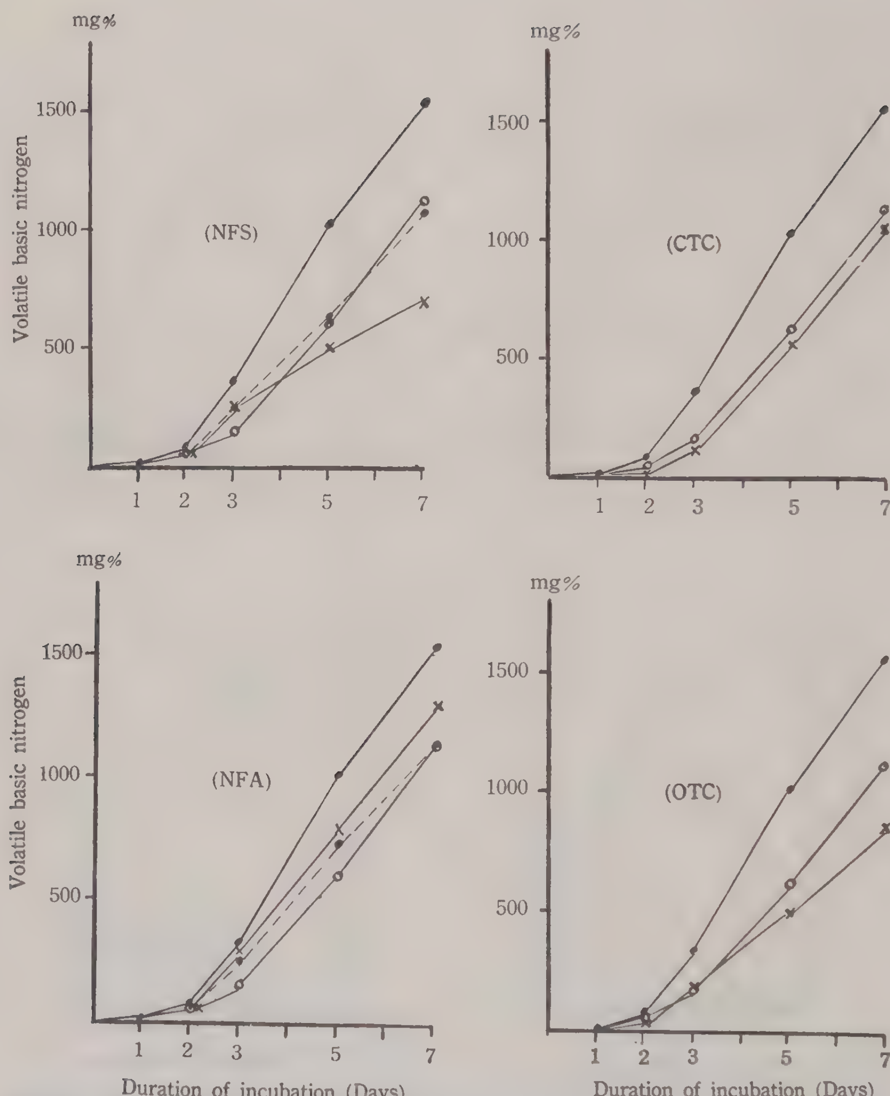


Fig. 3. Effect of Food Preservatives or Antibiotics added to Fish Suspension upon the Formation of Volatile Basic-N.

Note:

NFS
- ●——● Non-inoc. control
- ○——○ Inoc. control
- ●- - -● Permis. conc.
- ×——× 1.3×10^{-4}M

CTC
- ●——● Non-inoc. control
- ○——○ Inoc. control
- ×——× 2.5 ppm

NFA
- ●——● Non-inoc. control
- ○——○ Inoc. control
- ●- - -● Permis. conc.
- ×——× 6.2×10^{-5}M

OTC
- ●——● Non-inoc. control
- ○——○ Inoc. control
- ×——× 1.3 ppm

実験 4. 魚肉懸濁液における *Proteus morganii* のヒスタミン産生能におよぼす防腐剤等の影響

1. 供試菌株

Proteus morganii, ＃71

2. 供試防腐剤および抗生物質

実験1に同じ。

3. 実験方法

市販のマサバを購入し，肉部をできるだけ無菌的に採取した後細挫したものより各20gを取り，これに4倍量の滅菌蒸溜水を加え振盪して懸濁液を作成し（一般細菌数 98×10^2/cc)，これに防腐剤等を加えたものを試料とし，別に実験3と同様に培養した *Proteus morganii* 培養液を生理的食塩水で 100 倍稀釈したもの（菌数 50×10^5/cc) 1cc を加えて 25°C に放置し，一定時毎に試料を採取して実験3と同じ法によりヒスタミンを測定し，また微量拡散法により揮発性塩基窒素を測定した。

4. 実験結果

ヒスタミン量および揮発性塩基窒素量はともに原料魚肉に対する mg% に換算した。

ヒスタミンの測定結果は Fig. 2 に示す通りであり，一般に実験3より低い濃度でヒスタミンの産生が抑制された。また揮発性塩基窒素の測定結果は Fig. 3 のごとくであつて，使用した薬剤の濃度では腐敗はごく一部しか抑制されないことを示している。

考　　察

1. *Proteus morganii* はその一般性状は同一であつても細部に検討した場合差異があり，たとえばそのヒスチジン脱炭酸能においても相当の差異が認められている[2)]。防腐剤に対する感受性にもある程度の差があるものと考えられるが，Table 1 に示したように NFA においてはほとんど差がなかつた。NFS, CTC においてはやや差があるように見えるが，他の菌種における差から比べると顕著な差であるとはいえない。No. 325 株が OTC に特に高い値を示したのは注目すべきことで，この菌は CTC でも比較的高い値を示している。恐らくこの菌株は，獲得して耐性が向上したのではなく自然耐性株であろうが，NFS, NFA のような化学的薬剤に対しては耐性はないように思われる。大腸菌においては CTC および OTC に対し交叉耐性を示す例が報告[5)] されているので，この No. 325 株の菌株特異性は興味ある事実と考えられる。

また培養基の pH は 6.12 であつたので，CTC においては pH 7.0 におけるより低い濃度で細菌を抑制するはずであるが，前報と比較した場合特に低い値を示していない。このことは前報は nutrient broth で行い，本報はサバ肉エキスで行つているので，pH 値は低くとも後者の方が細菌の発育に好適な培養基であるためと思われる。

2. *Proteus morganii* はヒスチジンを脱炭酸してヒスタミンを産生する。ヒスチジンは本菌の生育には必須アミノ酸ではないが，その存在は窒素源として多少本菌の生育を促進する[6)] ので，ヒスチジンの含量が最小発育阻止濃度におよぼす影響について検討を行つた。ヒスチジンを比較的多量に含む赤身の魚肉（マサバ）とほとんど含まない白身の魚肉（マガレイ）を用い，同一条件で肉エキスを作り実験2を行つたのであるが，一部を除いてほとんど差は認められなかつた。また培養基の pH はマサバ 6.12，マガレイ 6.20 で大きな差はない。

3. サバ肉エキス中における防腐剤等の，*Proteus morganii* のヒスタミン産生に対する抑制は，肉眼的に観察した菌の生育抑制と平行的であつた。この事実は，これら薬剤は供試濃度においてはヒスチジン脱炭酸酵素阻害を行わないことを示すものである。NFA は法定濃度 (1.1×10^{-4}M) で完全にヒスタミン産生の抑制を行うが，NFS は法定濃度 (2.5×10^{-5}M) での抑制は不完全である。何れの場合も細菌の発育阻止における誘導期延長型と同じ傾向を示し，殺菌的に作用するのではなく菌の増殖を遅延せしめている現象と考えられる。

4. 減菌してない魚肉懸濁液に *Proteus morganii* 接種を行つた時に防腐剤等を添加した場合の様相は，

Fig. 2 に示したように滅菌サバエキス培地における *Proteus morganii* 単独の場合と異つてくる。すなわち実験1で最小発育阻止濃度を測定した場合に比し，NFS で4分の1，CTC で8分の1以下，OTC で4分の1以上の濃度でもヒスタミン産生の抑制が行われる。NFA のみはこのような現象は見られなかつた。ヒスタミンが3日目位で最高値に達し，以下減少するのは，*Proteus morganii* 以外の菌のヒスタミナーゼによるものと考えられる。肉エキスと肉懸濁液では，成分的にみて菌の生育を著しく左右する因子は考えられないので，上記の結果は主として魚肉中に存在していた細菌によるものであろう。肉懸濁液における一般細菌数は 98×10^2/cc，*Proteus morganii* の菌数は 50×10^3/cc である。魚肉中の腐敗細菌の増殖が使用濃度ではほとんど抑制されていないことは，官能的にもまた Fig. 3 に示される揮発性塩基窒素の増加からも明らかである。すなわち上記のような比較的低い防腐剤濃度でヒスタミンの産生が抑制されていることは，細菌学的検索を行つていないので直接の証明はできないが，感受性の高い *Proteus morganii* の増殖がやや遅延されている期間に，防腐剤に抵抗性の強い他の菌が増殖して predominant となり，*Proteus morganii* の増殖が拮抗的に抑制されるのではないかと考えられる。NFA の場合は，*Proteus morganii* とその他の菌との間に比較的感受性の差が少かつたことによるのではなかろうか。

Proteus morganii はアンモニアを産生しない[7]ので，揮発性塩基窒素の結果から観察してみると，その増加は魚肉中の腐敗細菌によることは明らかで,防腐剤の添加によつて腐敗細菌の発育防止効果と平行する。しかしながら実験は細菌の発育至適条件で行つたため，Fig. 3 に示したように，供試濃度ではほとんどみるべき抑制効果はなかつた。

上に記載したように滅菌した培地中での成績と，他の菌の共存する魚肉懸濁液中での結果では著しい差があるため，防腐剤の効力判定に当つては特に実験条件の吟味が必要である。

総　　括

防腐剤 (NFS, NFA)，抗生物質 (CTC, OTC) について，アレルギー様食中毒防止の可能性を検討するための基礎的研究を行つた。得られた結果を要約するとつぎのごとくである。

1. *Proteus morganii* 7 株につきサバ肉エキス中における供試薬剤の最小発育阻止濃度を調べた結果，OTC における1株を除く他，NFS, NFA, CTC では特に顕著な差はなかつた。

2. 赤身および白身の魚肉のエキスを基礎培地とした場合，*Proteus morganii* の最小発育阻止濃度はほとんど差がない。

3. *Proteus morganii* のヒスタミン産成に対する NFS, NFA, CTC, OTC の効果は，菌の生育抑制と平行することが判つた。

4. 腐敗細菌の存在する肉懸濁液中では CTC, OTC, NFS は，滅菌魚肉エキス中で測定した最小発育阻止濃度にくらべ相当低い濃度で *Proteus morganii* のヒスタミン産生を抑制した。

本研究を遂行するに当り終始熱心に御指導，御鞭撻を得た国立予防衛生研究所食品衛生部河端俊治先生に厚く御礼を申し上げます。本実験を行うに当り，実験材料を提供された日本レダリー株式会社に謝意を表わす。

文　　献

1) 輿津知明： 本誌，**26**，797 (1960).
2) 河端俊治・鈴木　茂： 本誌，**25**，473 (1959).
3) 河端俊治・鈴木　茂： 本誌，**25**，481)1959).
4) 河端俊治・内田　大・赤野多恵子： 本誌印刷中.
5) 秋葉朝一郎・横田　健： 未発表.
6) 塚本信之： 日細菌，**12**，443 (1957).
7) 河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚： 本誌，**22**，41 (1956).

抄　　録

北大西洋のニシン漁業の漁具漁法　LESLIE W. SCATTERGOOD and S.N. TIBBO: *Bull.* (121) *Res. Bd. Canada*, 23～32 (1959).　米国大西洋岸でニシン漁獲量の大なる漁具を順にあげると，Stop seine, Weir, Purse seine, Pound net, Otter trawl, Dip net, Haul net, Gill net で，はじめの三者で全漁獲の 93% をあげている。ところがカナダでは Gill net が断然多く，Stop seine, Weir, Purse seine 等の順となる。Stop seine は Weir および Gill net とともにこの地方では 17 世紀以前に使用されていたので，現在のものは1反の長さ 80～100 尋，深さ6尋，目合 $^3/_4$～1 in.，入江の岸から岸を横切つて渡し拡げ，岸に向つて網をせばめながら曳き魚の胃の内容物が消化しつくされたころに漁獲する。網は入江の大きさに応じ数反連結することもある。海中の燐光により発見が容易になるという理由で多くは夜間操業であるが，昼間操業で魚群を発見するにはワイヤーの先端に錘りをつけ海中に垂下してワイヤーの振動を計る方法が行なわれたが，第二次世界大戦以後は音響測深器や飛行機によることが多くなつた。Purse seine の規模は普通長さ 100 尋，深さ 15 尋，目合 $1^1/_4$～$1^1/_2$ in.，未成熟魚には長さ，深さは変らないが，目合だけが小さくなる。夜間操業が主で，昼間は冬期未成熟魚漁獲に少し行なわれている。刺網は長さ 35 尋，深さ 4～6 尋，目合 $2^1/_2$～$2^3/_4$ in.，未成熟魚には $1^1/_2$ in. 位，綿網が多くナイロン網はまだ少い。欧州と異り，多くて数反の網を使用するが普通1反を，人力によつて揚網する。流網形式は発達せず，錨で固定した浮刺が多い。Weir の類には Brush weir, Pound net, Floating trap がある。Brush weir は比較的浅い静かなところに建てられるもので，木柱とそだを材料とし，垣網と身網から構成されている。Pound net は Brush weir のそだの代りに網を使つたもの。Floating trap は杭もそだも使わず網と浮子とロープと錨で構成され，移動が簡単で比較的深い所に建てられる Weir の一種である。ニシン・トロール漁業は余り重要でない。Torching は古くより行なわれている簡単な Dip net 漁法で，冬期の夜間小さな漁船の船首に樺の皮，燈油，ガソリン，電気等の燈を点じ，船首に立つている漁夫が集まつてくる魚をすくいあげる。この漁法は未成熟魚を対象とするために禁止漁法となつたところもあり，次第に刺網にとつてかわられつつある。(下崎)

1955～'56 年における太平洋中央赤道海域のマグロ延縄および曳網漁業調査　E.S. IVERSEN: *Spe. Sci. Rep.-Fisheries*, 203 (1957).　1955 年3月から '56 年2月まで太平洋漁業調査船（米国）により Line 島附近のキハダの漁業調査が行なわれ，つぎの結論を得た。曳縄によつて漁獲された表層のキハダの体長分布のモードは 70～79 cm で，延縄によるキハダの 140～150 cm にくらべ小さく，時間当り漁獲率は 1.2～3.1 尾と低い。延縄の釣獲率は昨年にくらべ低く，また，キハダのオスとメスの比は 2.26: 1.00 であつた。幹縄が綿とスチールの場合について比較されたが，釣獲率には差がなかつた。延縄の漁獲水深がケミカルチューブで確かめられたが，赤道より北，数度(4°10′N)のところで最も深く鈎が沈むのは，赤道海流に原因している。一般に鈎の深さは時期と場所によつて異なる。Line 島の囲辺においては，島の附近と沖合とを 10 浬を境にして測定すると，鈎の平均水深は島より 10 浬以内の方がやや深いが，これは島の周囲を流れる特有の潮流の速度が島の附近で減少するからである。太平洋においては最高の釣獲率は最も深い鈎が 60～80 fm のところにある場所で得られた。沿岸では釣獲率は鈎の深さに関係せず全体に太洋のそれより高い。標識放流の結果では，1056 尾のキハダ，21 尾のカツオ等を標識放流し，このうち2尾のキハダが，放流された海域で再採された。1尾は '56 年2月 Christmas 島で放流，299 日目に再捕，3 feet 成長としており，1尾は '55 年9月 Fanning 島で放流，188 日目に再採，体重は5ポンド減少していたが，これは測定のミスであろう。(井上)

1953 年度の Neuse 河の Shad (コノシロの一種) の調査　G.H. WAIBURG: *Spe. Sci. Rep.-Fisheries*, 206 (1957).　北カルホルニヤの Neuse 河の Shad〔Alosa sapidissima (Wilson)〕漁業は便宜上2つの区域に分けることができる。1つは商業漁業区域（河口から Pitch Kettle までの 20 浬），他の1つは内陸漁業区域 (Pitch Kettle から上流 280 浬) と呼ばれる。漁具は両区域とも定置網，刺網，旋網が用いられ，漁期は前者が1月1日から5月1日まで，後者が6月1日までである。この2区域について，漁具別の漁獲資料（7日当りの漁獲尾数，1日当りの網数）から Shad の総数が見積られたが，内陸部では資料数が少なく，誤差が大きいようである。商業区域では 261 尾標識放流され，再採尾数が 170 尾であつたから漁獲率は 65% と推定され，したがつて漁獲尾数 98,000 尾から個体総数は 151,000 尾と見積られ，そのうち 53,000 尾が内陸部に入つたものと考えられる。しかし，内陸部での漁獲量が 78,000 尾と見積られているのは，前述のように，内陸部での漁獲の見積りの誤差か，商業区域での漁期が終了してから内陸部に入つた群が加算されているか何れかであろう。1952 年に Neuse 河に高さ 6.67 feet のダムが建設され，この影響も調査された。満水の時は shad はダムの上を自由に通ることができるが，渇水の時は魚道を利用をしなければならない。渇水期の5月5日から6月 26 日までの調査では

440 尾が魚道を利用しているが，この結果から魚道の効果は判定できない。しかし，電力会社は5月15日から7月15日まで産卵の Shad やその他の魚が通れるように水門を開くことを約束した。(井上)

クック島における黒蝶貝の調査報告 J.S. HYND: *Commonwealth of Australia, Comm. Sci. and Indust. Res. Org., Rept.*, 1～69 (1960). 従来黒蝶貝の好漁場として知られていたクック島における同漁業が，1957年以来資源保護の立場から中絶され豪州連邦水産・海洋局の手によつて生物学的調査がなされた。調査は測定等研究のみならず，生残率（自然死亡率）の研究等もなされ，ほぼつぎのような結論に達した。

（1） ここの黒蝶貝の population は生物学的に隔離されていて，かつ，その中でさらに遺伝的な群には分けられない。

（2） 漁撈技術上潜水で採れる 0～20 尋の地区と網で採る 20 尋は上の地区に分けて考えられる。

（3） 浅い方の資源は乱獲によつて減少するが，深い所のものから由来する稚貝の補給で回復しつつある。

（4） 浅い方のものの成長率は重量については均一であるが，交蝶部高 (heel depth) および殼高についてては地域によつてまちまちである。

（5） 生産の多い場所での稚貝 (Spat) のつき方は何処でも平均に分布している。

（6） 浅い方のものの自然死亡率については結論が得られなかつた。

（7） 補給（添加）量と死亡率の結論が未だ得られてないので適正な漁獲量を予報することは困難であるが，死亡率については重量 10 オンスの時に最高，16 オンスのときに最低であると考えられる。

（8） もしこの仮説に基くと，1960年の漁獲量は可視個体数の1/5にするのが適正であるということになる。

上記の結論に基き，さらに 1960 年以降毎日漁獲量や，標識実験を行なつて行くか，現在としては自然死亡率が高いという方の仮説をとれば 1960 年には漁獲が再開されても良いといえるし，低いとすればあと2年は漁獲禁止にすべきであろうとし，さらにこの仮説を説明する事項が附記されている。

(宇佐美)

英国東岸の幼ニシンの研究 R. J. WOOD: *J. Du Conseil.*, 24 (2), 264～276 (1959). 英国東岸でみられる"カエリ"前後の幼ニシンについて平均脊椎骨数の相違と地理学的分布を基礎とし4群を区分した。それらの1つは北部域 (Bridlington Bay-Berwick) でみられ，春に発生したと考えられ，他の1つは南部域 (East Anglian Coast, Deal) とその中間域とでみられ，夏の発生で脊椎骨数は低く，近年増加しているようだ。北部群は5月に大体 5cm の体長のとき沿岸部で"カエリ"となり，成長して秋早く 10cm になると沖合へ移動する。南部群は小さく大体 4.5cm で6月中に沿岸で"カエリ"となり秋～冬にかけて 9cm 程度で沖合移動をする。なお 1955，58 年に例外的な幼ニシンの大漁が北方域であつたが，その体長モードや，高い平均脊椎骨数から同じ発生源をもつと推測される南方域で獲られたものと同様と考えた。したがつて南部で主にみられる群は恐らく冬の産卵後期の発生群から構成されるものと思われる。すなわち，それら2群の北系は Dogger Bank で秋の産卵から生じ，南系は Downs で冬の産卵後期から起つたことは確からしい。かけ離れた群で5月に 6～7cm の大型体長の幼ニシンが北部域に分布していたが，それらは Scottish 東岸の秋の産卵により生じたとみられ，9～10cm になり 6，7 月に再び沖合に移動する。(宇佐美)

河川における魚類の活動と流量，水温，太陽放射量および結氷との関係 P. R. NEEDHAM & A. C. JONES: *Ecology*, 40 (3), 465～474 (1959).

Sagehen Creek (California, Sierra Nevadas の高度 2100m の東斜面を流れる) における魚類の活動に関連した冬期の生態学的条件を調べた。この川にはニジマス，カワマス，ブラウンマスおよびカジカが生息している。河川水温は冬 0°C，夏 21°C となり，水温の日変化は冬には太陽放射量が少ないためと，結氷期中の溶解の潜熱としての熱の貯蔵によつて，夏よりも変動が少ない。水温は春 4～6 月と秋 10，11 月には徐々に変化するが，この期間は，マスにとつては夏の高水温と冬の低水温に対する馴化期間として重要な意味がある。河床のマクロファウナは冬でも豊富にあり，マスが水温 0～0.5°C の低温でも摂餌しているのを観察できた。底氷 (Anchorice) は，12 月の厳寒，水温が 0～4.4°C に降下した早朝に多く形成され，底氷の形成があると水位の上昇がみられ（平常水位 24.7 cm が 39.9 cm に上昇），瀬の流れを減ずるので重要な生態学的要因となる。底氷が融解，漂流すると，かなり多量のマクロファウナが流出し，マスの利用できる餌となる。マスの冬期の高い死亡率は，おそらく餌の欠乏や低水温によるものでなく，激烈な洪水や雪崩による窒息，氷による一部水域の減水などの突然の大変動によるものであろう。(野村稔)

Newfoundland 水域における音波の散乱の観察 STEINAR OLSEN: *Fish. Rep. Bd. Canada*, 17 (2), (1960). 1957～'58 年におけるニシンの調査に際して，音波の散乱層は時には表面の暖水帯に存在し，時には暖水帯と下層の冷水帯の転移層にあることが観察された。したがつて散乱の原因を水温の躍層における海水の比重の著しい変化に直接関係があるとするより，生物的なものによると仮定した。しかし，'57 年の9月，Fortnne 湾において数多くの散乱層のなかに多数の ctenophores があつたこと以外は，プランクトンによるという確証はない。散乱層は時には 4°C の冷水帯にもあらわれるが，普通は 8.5°～17°C の比較的暖水帯にあらわれ，水

温の転移層は散乱層の垂直分布を広くするのを防ぐ壁の役目をしている。また，疎らな散乱は散乱層の上方に記録されるが，下方にはあらわれることはない。散乱層の水深は '58 年のように躍層における温度勾配が比較的小さい場合は躍層の水深と一致しないが，'57 年のように正常な場合は散乱層の水深と躍層の水深とは関係がある。また，調査区域の表面水温分布と散乱層の分布との間には直接の関係は見出されなかつた。これとは別に， D. S. L. が St. Lawrence 湾でニシン流し網操業中に発見された。('58，6 月 4〜5 日) この時の漁獲はニシン 1 尾であり，D. S. L. の水深に多数のタラ釣針を用いたが，何もとれなかつた。D. S. L. は 20 時 10 分に 151〜154m の層に見出され，最初の 50 分に 120m 上昇しており (2.5 m/min.) 22 時頃から翌日の 5 時頃までには 30〜50m 線に上昇し，その後は再び急速に下降し，160m 線に達している。21 時 10 分の記録では散乱層から離れて多数の個体が毎分 10m の速さで船下 5〜7m 線にあらわれているが，これは D. S. L. を形成するものとは別の群，多分ニシンとか游泳速度の速い魚であろう。(井上)

Pacific Sardine の産卵力について J. S. MAC GREGER: *U. S. Fish and Wildl. Service, Fish. Bull.*, **57**, 427〜449 (1957). 1945〜46 年に San-pedro で漁獲された 587 個体の雌につき，卵巣卵の卵径測定を行なつた。体長階級を通じて Fecundity の回帰直線に関して，卵数と体長. 体長の平方および体長の 3 乗との間に重要な相違はなかつた。卵数は年令，体長とともに増加し，また体重とともに増加した。卵数の推定数は，体長 20.0cm で最も発育した卵黄のモード内卵数から 26.8×10^3 であつた。卵数増加あるいは減少の割合は，体長 1.0cm 当り 5.14×10^3 であつた。 $Y=a+bx$ により Y の標準誤差は 8.76×10^3 であつた。 Fecundity と体重との相関は，体長との相関より高い。卵黄の最も発育したモードの卵数は，体重 1gr 当り 263 であつた。Fecundity と体長，体重の相関はともに，年令との相関より高い。

本研究に関する限り，取扱つた材料を用いて断定できることは，卵径組成のモード数は親魚が 1 産卵期に産卵する回数を示すと言うことである。最初の成熟時年令，体長は 1 年魚以上，17.5cm 以上であつた。(宇佐美)

タラ (*Gadus callarias L*) 筋肉の水分含量 R. M. LOVE: *Nature*, **185**, 695 (1960). ニシンのような脂肪の多い魚では食物が不足してくると脂肪が減少して水分含量が増加するが，タラのように脂肪の少い魚では体蛋白質が利用されて水分が増加する。正常な魚の水分含量は 80〜85% であるが，人為的に絶食させると死ぬまぎわには 88% にふえる。ここで報告するタラはアバディーン南東 30 浬の地点で漁獲され 12 時間以内にフィレーにしたものである。フィレーの前端から数えてほぼ 8〜16 番目の筋節を結締組織が入らないように採取し 100°C の乾燥器中で 7 日間乾燥して水分を定量した。魚を大きさによりつぎの 3 群に分けて測定した。第 1 群，20 インチ内外 (性的未成熟)，第 2 群，30 インチ前後 (生物学的最小形)，第 3 群，36〜42 インチ (成魚)。なお各試料は 1〜8 個体の混合試料とした。水分含量は魚の大きさと季節によりことなるが，各群とも 3 月に最大で，第 1 群 81.5，第 2 群 81.8，第 3 群 83.2% の値を示している。なおこの時期は産卵期である。このように魚体が大きくなると水分含量が高くなるが，またその期間も長く持続している。自然状態でえられた魚で最も水分の高かつたのは 6 月はじめにとれた 42 インチの魚で 87.2% にもおよんだ。この例からもわかるように魚の成分変化を調べるには同一漁場でえたものについて 1 カ月間隔で 1 カ年間少くとも 2 種の年令群について分析する必要がある。(岡市)

産卵洄游中の sockeye salmon の生化学的研究—I. 血中コレステロールおよび無機成分の変化 D. R. IDLER and H. TSUYUKI: *Can. J. Biochem. Physiol.* **36**, 753〜791 (1958). 産卵洄游中の sockeye salmon (*Onchorynchus nerka*) のエネルギ消費を究明する目的で，Fraser 河の河口，250 浬上流の地点および 715 浬上流の産卵場の三点で漁獲した魚の各組織の重量，血清中のコレステロール，カルシウム (I) マグネシウム (II) 尿素態窒素 (III) および無機硫酸基の量を測定し，その変化を調べた。産卵洄游中の sockeye salmon は魚体の大きさおよび成熟の段階が比較的よく揃つており，個体差が少い，その体重は溯河の初期に急激に減少するが，それ以後雌ではほとんど減少せず，雄では増加する。この増重は組織の水分が増すためで魚体の比重は 1 に近づく。溯河初期の体重減少は雄で 11%， 雌で 30% であつた。精巣および卵巣の重量はそれぞれ 51% および 272% 増加し，他の内臓では消化管の重量が著しく減少した。血漿中の全コレステロールは雄 31%，雌 65%，また遊離コレステロールは雄 53%，雌 64% の減少を示した。河口における血漿中の I は雄 21.6，雌 27.3 mg%，II は雄 15.8，雌 0.86 mg%， III 雄 6.0，雌 6.2 mg%，硫酸基は雄 12.5，雌 13.0 mg% であつた。これらのうち II のみが溯河中に増加したが他はすべて減少した。(岡市)

魚類ヘモグロビンの多様性 N. CHANDRASEKAHR: *Nature*, **184**, 1652 (1959). 種々の魚のヘモグロビンの濃度については多くの報告があるが，Buhler が魚のヘモグロビンの多様性について報告している以外に魚のヘモクロビンの電気泳動像についての信頼できる文献は見当らないようである。本報では淡水産の 10 種の魚の血液についての新しい知見について述べる。すなわち魚の心臓から直接にヘパリンを塗布したガラス管で採血し溶血後，寒天電気泳動によつて分析を行つた。ヘモグロビン帯は

amido-schwarz で染色すると青くなるが，さらに benzidine test を行つてヘモグロビンであることを確認した。また各成分の量比は photorolt densitometer で比色を行つた。易動度の大きい方から順に α, β, γ とすると，すべての魚で α-成分は 70～90% を占め，β-, γ-成分は非常に少なかつた。易動度についても種特異性が認められたが，すべての魚のヘモグロビンは人の血清中の γ-globulin と同程度か，またはいくらか小さかつた。試料魚はすべて成魚で同種類の魚では個体差は認められず，ヘモグロビンはいつも同じパターンを示したが，明瞭な科の特徴は見られないようである。また空気呼吸の魚でもヘモグロビンパターンの多様性が認められた。(金光)

ヘモグロビンのない魚　A. STOCK: *Nature*, **185**, 625～626 (1960).　カジカの一種 *Xenopus laevis* でヘモグロビン欠除の魚が報告されているが *Cichlid* 科の *Cichlahoma serverum* で雄成魚の一尾がほとんどヘモグロビンを有しないことが観察された。水槽 (25° ± 1°C) で 2 年間飼育していた魚で体長 92 mm であつた。同腹の他の魚の大きさは 109～154 mm で，これらの魚にくらべて不活発で最後の数カ月間は水表面に浮びほとんど摂餌しなかつた。頭を切つて殺したが，血管は白色または全く無色，心臓はうすいクリーム色で肝臓は灰色を呈していた。胆のうおよび脾臓は肥大し，胆のう中には大量の胆汁色素がみられた。しかしこれらの臓器は組織学的には正常であつた。暗緑色の胆汁色素が大量にみられたことからヘモグロビンの分解は比較的最近起つたものと考えられる。DE GRAAF (*J. Exptl. Biol.*, **34**, 173 (1957) によれば *Xenopus laevis* ではヘモグロビンがなくても生長しうるといわれる。しかしこの状態である程度生きることは可能であるが，これはあくまで病的なもので成長してから生じたものと考えられる。(岡市)

ヘモグロビンのないヤツメウナギ　B. RYBAK: *Nature*, **185**, 777～778 (1960).　DE GRAAF (*J. Exptl. Biol.*, **34**, 173 (1957)) と EWER (*Nature* **183**, 271 (1959)) が *Xenopus laevis* でヘモグロビン欠除の例を報告している。著者は円口類の一種 *Myxine glutinosa* の心臓の研究中，たまたま体長約 25 cm の魚が非常に青白く，ただ背中と胸部が灰色をしているのを観察した。この魚の血液中には血色素がみられず，ただ鰓の数カ所に小さな赤い斑点がみられたにすぎない。血管はクリーム色で，心室は桃色であつたが，これはミオグロビンやチトクロームによるのではなかろうか。肝臓は暗緑色で 8% フォルマリンで固定すると背中の大きな血管は淡緑色になるが，恐らくヘミン化合物の分解によるのであろう。胆のうは正常魚にくらべ特に異状はみられなかつた。この魚は 2 日前にスエーデンの Gullmars Fjord で，サバの切身を入れた大きな壺を使う漁法により他の魚と同時に漁獲したもので水槽中では正常魚と同様に元気であつた。このように呼吸色素が非常に少いのに正常な食欲を持つていることから考えると，この魚でヘモグロビンがどのような特別な役割を示すかが疑問になつてくる。(岡市)

双鞭藻類の一種 *Amphidinium carteri* よりえられたアミンについて　P. J. WANGERSKY: *Nature* **185**, 689～690 (1960).　植物プランクトンの培養液に溶出してくる炭水化物について研究中 *Amphidinium carteri* の培養液中に N-ethylcarbazole で青色を呈する物質が存在することを知つた。この物質は一種のアミンである種の複合体となつているものと思われる。培養液が古くなると魚臭を発するが，この藻類中に一種の酵素が存在し，細胞が破壊されるとこの酵素によりアミン複合体が分解されるためである。この酵素作用は anticholine esterase の一種である eserine の添加またはこの培養沪液を酸性にすることにより阻害される。このアミン複合体は，また稀 NaOH で reflux すると加水分解されてアミンを遊離する。このアミンは choline とは異なるが，N-ethyl carbazole 反応で acetyl choline (**I**) および acetyl-β-methyl choline が同様な青色を呈するので **I** の類似物質と考えられる。ABBOTT & BALLANTINE (*J. Mar. Biol. Assoc.*, **36**, 169 (1957)) は *Gymnodinium veneficum* より酸性メタノールでマウスに対して **I** と同様の効果をもつ物質を分離しているので他の双鞭藻類からも **I** または **I** 類似物質がえられるかもしれない。(岡市)

低温細菌の一種 *Pseudomonas fluorescens* の生産する蛋白分解酵素の性質　A.C. PETERSON and M. F. GUNDERSON: *Applied Microbiol.*, **8** (2), 98～104 (1960).　*P. fluorescens* は冷凍冷蔵した食品の細菌フロラの代表としており，この菌株も冷凍鶏肉から分離した。冷凍食品を融解した場合に，多分低温細菌の酵素による影響と思われる不快臭や不快な食味が生産され，これは存在する細菌数から予期されるより以上に多方面にわたつている。この菌株の生長の最適温度は生長曲線から 20°C にあり 37°C では全く発育しない。蛋白分解酵素のうち菌体外酵素は 0°C の培養温度で最も多く産生され，温度の上昇するにしたがい少くなる。産生のピークは対数発育期にあり，その後自己消化により第 2 のピークができる。生長の最適 pH は 8.0 であるが，酵素生産は 7.0 および 8.5 である。菌体内酵素は音波処理により増加し，さらに透析によりその活性は増加するが，菌体外酵素に比べると活性が多少劣る。菌体外酵素は硫安分割により 2 つのフラクションに別けられる。これら菌体内酵素，フラクション I, II について，過度，pH，基質の濃度，酵素濃度等の影響を実験した結果フラクション II は明かに異る酵素であるが，フラクション I と菌体内酵素は類似性が認められる。これは菌体外酵素の一部は自己消化により菌体内酵素が遊離したことを示す。(横関)

雑　　録

1. 学会賞詮衡在京委員会

開催日時　7 月 15 日午後 3 時

場　所　東京水産大学小会議室

出席者　委員長以下 3 名

議　事

a. 毎日学術奨励金に下記を推薦することとした。

中村守純「日本産コイ科魚類の生活史に関する研究」

b. 偕成学術奨励金に下記を推薦することとした。

横尾　猷「日本産蝦類の分類学的研究」

2. 編集会議

開催日時　7 月 21 日　午後 3 時

場　所　東京水産大学小会議室

出席者　編集長以下 13 名

議　事

a. 記念号掲載論文は 17 篇とし，その事情を編集後記に述べることとした。

b. 理事会構成員に関する件は更に試案を作り，これについて次回に相談することとした。

c. 次回は 8 月下旬開催することとした。

3. 訂　正

a. 中部支部より下記のごとく訂正申入れがあつたので訂正する。

支部長，川本信之氏を岡田弥一郎氏に，川本信之氏は支部評議員とする。

新 着 図 書 案 内

(1960. 7.31～8.15)

Acta Hydrobiologica, I. Fasc 1, 3-4.

Annual Report, Twenty-Ninth (1st April, 1957 to 31st March, 1958).

Institute Für Sceficherei, Heft 10, 1960.

World Fishing, June, 1960.

Commercial Fisheries Outlook, July-Sept. 1960.

Bulletin de L'Institut International du Froid, XI, No. 2, 1960.

Ichthyological Bulletin, No. 18, May, 1960.

Investigation Report, No. 41 1960.

Commercial Fisheries Review, 22, No. 6, June, 1960.

Bulletin of the Florida State Museum 5, No. 4.

Arch, Soc. 'Vanamo' 14, 1959.

Vit Et Milieu (Bulletin du Laboratoire Arago), XI, Fasc. 1, 1960.

Anales Del Instituto de Biologia, XXX, No 1-2.

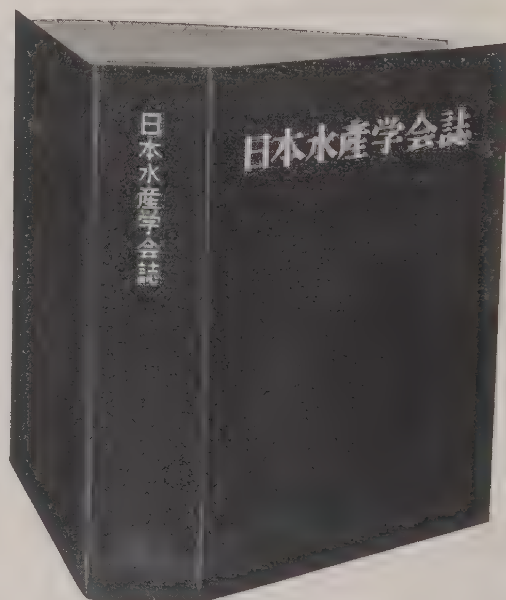
Information für die Fischwirtschaft, Nr. 2, 7. Jahrgang, 1960.

Reprint : 10.

正 誤 表　(Vol. 26, Nos. 6. 7)

		誤	正
582 頁	下から 9 行目	0.01 N HCl 0.34 *ml* を加え	0,01 N HCl 3.40 *ml* を加え
640	(表題) 2 行目	制定法	判定法
645	文献 3 行目	本誌 22	本誌 26

会誌 論文集 合本用ファイル (B5判) 実費頒布御通知



水産学会誌1年分を簡単に製本出来る。

冊誌を傷めず保存できる。

穴をあげず，糊も使わず合本出来る。

中の何れでも取外しが簡易。

頒価 厚さ 4.5 cm	¥ 120
〃 6.0 cm	¥ 130
	〒 ¥ 20

御希望の向は代金を添え日本水産学会事務局へ御申越下さい。

○学会所定原稿用紙価格 送料共 金 100 円

昭和三十五年八月二十日 印刷
昭和三十五年八月二十五日 発行

第二十六巻 第八号

本号定価 160 円
(送料別)

編集兼発行者 大 島 泰 雄
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発 行 所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529番
電話 (451) 2200番

印刷者 笠 井 康 頼
印刷所 株式会社 国際文献印刷社
発売所 株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町 184
電話 (341) 7446

八ケ嶽湖沼群の湖沼学的研究—II.

白駒池における浮游性ミズダニ *Piona* (*Piona*) *carnea* (Koch) の季節的消長について

門田定美・小久保清治

(1960 年 6 月 20 日受理)

STUDIES ON THE LIMNOLOGY OF THE LAKES OF YATSUGATAKE LAKE GROUP—II.

OBSERVATIONS ON THE SEASONAL CHANGE OF PELAGIC WATER-MITE, *PIONA* (*PIONA*) *CARNEA* (KOCH) IN LAKE SHIRAKOMA

Sadami Kadota and Seiji Kokubo*

During the limnological study (1955) of Lake Shirakoma, the authors came across a noticeable occurrence of the association of pelagic water-mite, *Piona* (*Piona*) *carnea* (Koch). Though this is not uncommon, its regular and rich occurrence, and also its excellent swimming mood, particularly attracted our interest. And thus the authors were naturally led to make a brief observation of this species.

The result of the observation shows that the adult form is found to dominate during the period from late May to early June. Including the young, however, the greatest abundance is seen during early August.

The disappearance of the species during the months from October to May, seems to show that it hibernates during this period in or on the bottom of the lake. The spawning of the species culminates in late July to early August, the spent animals dying out soon after the spawning.

The maximum size of the eggs is 237.5μ in diameter, the number of eggs per individual being about 32. The largest body length is 2362.5μ in the female, and 1837.5μ in the male. These dimensions, however, vary with individuals. It is worthwhile to note that the pulps and pedals of small individuals are larger than those of larger individuals.

The habitat of the above species, Lake Shirakoma in Nagano Prefecture, is a typical Japanese volcanic lake. The lake is situated at such a high altitudes as 2115 m, its maximum depth being but 8 meters.

I. 緒　　言

Piona (*Piona*) *carnea* (Koch) は，その分布はなはだ広く cosmopolitan であるが，至るところに出現するものではなく，湖沼の生物としてはむしろ珍らしいものである。本種に関してはすでに内田[1]・今村[2]が千島列島の池沼あるいは尾瀬沼産等の種類について詳細に報告しているが，本種の生活史に関する研究は比較的少ないようである。

本研究は本種が本湖のごとき高山の火山湖沼という特殊な環境下においてどのように順応しているかを明らかにせんがために行われたもので，とくに本種の形態，生態および季節的消長についての研究を行つた。

調査は 1955～1957 年の 3 ケ年間に 12 回にわたつて行つたものであるが，この中 8 回は 1957 年に行つ

* 日大農獣医学部水産学科 (Dept. of Fish. Coll. Agr. & Vet. Med, Nihon Uuiv.).



Fig. 1. Quantitative plankton sampler.

た。したがつて研究は 1957 年を主としたものである。

II. 調 査 方 法

本種の採集は上半部 No. 5, 下半部 No. 14 の Müllergauze で作られたプランクトンネットを使用し，曳網深度をなるべく 2 m 附近とし，速度を 1 m/sec. 以内に保ちながら 15 分間採集したものである。また定量研究に使用したネットは Fig. 1 に示すごとく上半部および下半部よりなり，上半部は canvas で作られた直径—23 cm, 高さ—46 cm の円柱状のネットで，下半部は Müllergauze (No. 14) で作られた直径—23 cm, 長さ—12.5 cm のネットである。使用方法はまず下半部のネットを所定の深度に沈め，続いて上半部のネットを落下するのである。しかしながら今回の定量研究は，本種の游泳力がすこぶる強いものであるので，正しい定量的意義は期待できない。

卵の測定は採集したミズダニの中から比較的大型の個体を時期別に選出し，それらを顕微鏡下で解剖して卵をとり出し測定した。

III. 研 究 結 果

1. 環境条件　本種の分布は[2]ヨーロッパ，アフリカ，アジア，アメリカおよびカナダなどほとんど全世界にわたつている。わが国では日光国立公園の尾瀬沼および北海道の大雪山の池沼などに分布し，さらに内田[1] は千島列島の池沼より本種を報告している。

本種の環境条件に関しては，その資料が少なく，より精細に調査したものでなければ十分とはいえないわけであるが，ここに本湖および尾瀬沼の観測結果にもとづいて，概略ながら両者の環境条件を比較すれば下記のごとくである。すなわち尾瀬ケ原池沼は上野[5] によると水温は 7 月上旬に 18.5～22.0°C, また pH はおおむね 5.0～5.2 といわれ，さらに西条[6] は尾瀬ケ原の中田代池沼で， 8 月中旬に水温は 21～25°C, pH 4.2～4.6 を報じている。つぎに溶存酸素量についてみると尾瀬ケ原の中田代池溏ではおおむね飽和に近い価を示しており，$KMnO_4$ 消費量は水の色が赤褐色を帯びた池沼では，20～50 mg/l が比較的多い。一方これを本湖についてみると，水温は 8 月上旬で 22.4°C (表面)，pH は調査期間を通じて 4.8～5.4 であつた。また溶存酸素量および $KMnO_4$ 消費量はともに，その価は尾瀬ケ原池沼とかなり近いもので大差はみられなかつた。さらに尾瀬ケ原池沼は[5] いわゆる腐植質性湿原池沼で，水は無色透明なものが多いが，中には赤褐色乃至黒褐色を帯びているものもある。一方本湖は針葉樹を主とする森林に被われており，湖水は腐植質に富み，やや赤褐色を帯びている。すなわち両湖沼は腐植質に富むという点で一致している。

以上は両湖沼における湖沼条件の概略であるが，これらの諸点より考えると本湖と尾瀬ケ原池沼とはかなり類似した点があるように思われる。

2. 形 態

A) 卵　卵は球形で，その色は未熟卵のときは黄白色であるが，発育するにしたがい黄色を呈し，成熟卵に達するとやや橙赤色を帯びる。すなわち本調査によると， 5 月および 6 月（採集）の卵はほとんど黄色であつたが， 7 月には橙赤色を呈するものがみられた。しかしながら橙赤色を呈するのは，抱卵中のすべての卵ではなく，例えば 7 月 10 日採集の 1 個体は，抱卵数 14 個の中 8 個が橙赤色， 6 個が黄色であつた。

つぎに卵の大きさであるが，測定範囲は 50～237.5μ で，各個体において異なるのみならず，同一個体においても著しい差がみられた。すなわち 5 月 26 日の採集では 7 個体について測定したところ，3 個体が抱卵中で， このうち 1 個体が 224.5μ， 1 個体は 187.5μ で，また 1 個体は 187.5μ が最大で漸次小さくなつている卵を多数有していた。 6 月の採集では 6 個体の測定を行つたが，各個体とも卵の大きさは比較的平均しており，その範囲は 172.6～237.5μ であつた。しかしながら 1 個体のみは 225μ が最大で， その他の卵は漸次小さくなつていた。7 月 10 日（採集）は 2 個体の卵について測定を行つたが，大きさの範囲はいずれ

も 175.0～235.5μ であつた。時期的には5月がもつとも小さくついで6月，7月の順で，発育の状態がうかがわれる。なお本調査によると卵の最大は237.5μ であつたが，これは本種の産卵が，7月の上・中旬頃であることと，7月20日以後の調査で，抱卵中のものが全く出現しなかつたことからみて，ほぼ最大に近いものであろうと思われる。

抱卵数は Table 1 に示すごとく，各個体により著しい相違があり，その範囲は7～32個であつた。時期的には6月中旬がもつとも多く，その範囲は17～32個で，ついで5月（8～16個），7月（7～14個）の順であつた。かくのごとく各個体および各時期によつて著しい相違がみられたが，これはいうまでもなく各個体における発育程度の相違である。すなわち5月下旬が少ないのは，未だ産卵期に達しないためで，また7月上旬の少ないのはすでに抱卵中の幾分かが孵化したためであろうと考えられる。

B) **Larva**（8月4日採集）　測定した種類では形はおおむね卵形で色は黄白色であつた。また，体長—350μ，体幅—250μ，両眼間の距離—75μ，吻長—145.3μ で，各游泳肢の長さはTable 2に示すごとくであつた。今これを北海道の大雪山の池沼における larva[3] に比較すると，本湖産の larva は体長および体幅がやや小さいにもかかわらず，各游泳肢は全般的に幾分長かつた。しかしながら各游泳肢の各節における長さの割合はほとんど同様であつた。

C) **Adult**　測定した種類は，体長—2100μ，体幅—1325μ，両眼間の距離—600μ で，palp および各游泳肢の長さは Table 3, 4 に示す通りである。いま，今村[2] が報ずる尾瀬沼産の体長—1500μ，体幅—1000μ の palps および各游泳肢の長さを，本湖産のそれにくらべると，各節に

Table 1. Number and size of eggs in different months.

'57, 5, 26		'57, 6, 19		'55, 7, 10	
Number	Size (μ)	Number	Size (μ)	Number	Size (μ)
16	224.5	17	225.1	14 { 8	237.5
10	187.5	30	172.6～225.8	6	175.0
8	187.5	23	225.0		
		32	190.0～230.5	7 { 1	237.5
		29	212.5～232.5	6	175.2
		25	237.5		

Table 2. Length (μ) of pedal segments in larva.

Leg \ Segment	1	2	3	4	5
I	39.8	50.6	48.4	69.2	74.4
II	41.5	52.4	48.4	72.7	86.5
III	43.3	51.9	56.7	72.7	96.9

Table 3. Length (μ) of pedal segments in small individual (1287.5μ) and large individual (2100μ).

Leg \ Segment	1	2	3	4	5	6
I	100.8 **129.8***	227.4 **244.8**	235.2 **266.4**	345.6 **364.4**	374.4 **396.0**	374.5 **396.0**
II	100.8 **129.0**	260.5 **263.6**	260.2 **283.6**	352.8 **374.4**	381.6 **403.2**	378.5 **396.0**
III	115.2 **129.1**	252.5 **259.2**	259.2 **270.4**	367.3 **365.6**	381.6 **382.5**	374.4 **386.6**
IV	158.4 **158.4**	223.2 **254.8**	266.4 **315.9**	367.2 **388.8**	378.4 **376.0**	324.0 **360.0**

* Gothic····small individual.

Table 4. Length (μ) of palpal segments in small individual 1287.5μ) and large individual (2100μ).

Segment	1	2	3	4	5
Extensor surface	43.9 **56.7***	147.4 **150.9**	91.3 **101.4**	195.1 **191.5**	70.9 **88.6**
Flexor surface	35.6 **39.1**	87.6 **106.6**	44.3 **43.3**	165.0 **166.6**	69.0 **70.9**
Height	70.9 **93.0**	117.5 **121.1**	82.4 **122.8**	47.7 **51.9**	27.7 **31.1**

* Gothic····small individual.

おける長さの割合はかなりよく一致しているが，尾瀬沼産の各游泳肢の第3節が第2節に比べ，比較的長いのに対し，本湖産のものはあまり差がなかつた。また palpal segment については本湖産のものは各第1節が比較的短かかつたが，その他はかなりよく一致しており，著しい変化はみられなかつた。

つぎに体長であるが，今回の測定範囲は 1075.0～2362.5μ で，この中 ♂ は 1400～1700μ が，また ♀ は 1900～2100μ が 60% 以上であつた。かくのごとく ♀ は ♂ に比べ，かなり大型で，♀ の 16 個体の平均体長—2120.8μ，体幅—1270.3μ にたいし，♂ では 26 個体の平均で，体長—1460μ，体幅—915μ であつた。なお本湖産および尾瀬沼産のミズダニの体長と体幅の関係を百分指数でみると前者の 63.1 に対し，後者は 66.6 であり，本湖産の方が幾分細型であつた。

D) 形態的特徴　本調査によると nymph および adult の中体長および体幅が，他の種類にくらべ，はなはだ小さいにもかかわらず，游泳肢がすこぶる長いという種類が，全体の 4～5% 出現した。すなわち，Table 3 および 4 は体長—1287.5μ および体長—2100μ の各 palps および各游泳肢の長さを比較したものであるが，この表より明らかなごとく小型種の体長は，大型種の3/5であるにもかかわらず，palps および游泳肢は全般的にかなり長い価を示している。さらに興味あることは本調査で出現した nymph の体長は，その 60% 以上が 700～900μ で，larva から nymph となる大きさは約 500μ であつたが，しかるにこの種は体長—300μ で，すでに nymph の形態をそなえ，すこぶる長い游泳肢を有していた。この種類は ♀ ♂ いずれにも見られたが，いずれかといえば ♂ の方が幾分多いようであつた。

Table 5. Ranges of body length (μ) in different developmental stages.

Larva	217.5～337.5
Nymph	300.0～975.0
Adult	1075.0～2362.5

3. 生態の概要とミズダニの量

A) 生態の概要　飼育実験で本種が腐植質の沈澱物中に盛んに潜入するのを観察した。この点より考えると本種は湖底に腐植質の柔らかい有機物が多量に存するということが，生理的に何か関係があるようで，このことは本湖におけるミズダニの分布状態からも推知することができる。すなわち本湖におけるミズダニの分布は，腐植質の多い北東側に多く，腐植質の少ない西側には少なかつた。また垂直分布においても表層には少なく，深層に多いようであつた。

B) ミズダニの量　定量調査を行つたのは夏季（7月20日）および冬季（1月12日）の2回で，いずれも各深度について行つた。これによると夏季では 0m—1 個体，2m—1 個体，4m—2 個体（いづれも 20*l* 水中の個体数）が出現したが，1月には全く発見されなかつた。出現した発育段階はいずれも larva のみで，adultは全く出現しなかつた。しかしながら今回の定量方法では，adult の游泳速度がすこぶる早いことと，本種が沈澱物中に潜入するという点から，正しい定量的意義はほとんど期待できないわけである。

つぎにプランクトンネットによる採集では，その個体数は Table 6 に示すごとく，5月はわずかに9個体であつたが，6，7 月には比較的多くなり，8月には 110 個体で調査を通じてもつとも多かつた。しかしながら8月下旬には著しく減少し (18 個体)，9月上旬にはわずかに4個体であつた。なお調査は Table 6 に示されている外，5月6日，10 月 28 日，11 月 23 日，12 月 14 日および 1 月 15 日に行われたが，これらの調査では1個体も発見されなかつた。以上の点から考えると本種の活動期（浮游期）は，融雪期である5月中旬より水温がなお比較的高温である9月の下旬頃までで，冬期はごく底層附近かまたは沈澱物中で休眠状態に入り越年するのではないかと思われる。

Table 6. Total number of individuals in different months.

Date	'57, 5, 26	'57, 6, 19	'55, 7, 10	'57, 7, 20	'57, 8, 4	'57, 8, 20	'56, 9, 30
Number	9	39	25	25	110	18	4

4. 季節的消長

Table 7 (各期別個体数) および Table 8 (発育別個体数) より明らかなごとく5月26日の出現数は9個体で，この中 adult が7個体，larva および nymph はいずれも1個体であつた。6月19日は39個体が出現し，この中 adult が33個体でもつとも多く，ついで nymph—5, larva—1 の順であつた。今これを前回（5月）にくらべると adult および nymph が比較的多くなつているが， larva は前回（5月）と同様に極めて少なかつた。7月10日の出現数は25個体で前回（6月）に比し幾分少なかつた。しかしながら各発育別には larva—7 個体，nymph—8 個体および adult—10 個体で，前回（6月）にくらべ larva および nymph が比較的多くなつた。なお大きさについてみると，今回は前回（6月）とくに多かつた adult の大型種 (1901～2100μ) が著しく減少し，さらにこれを上まわる大型種が出現した。7月20日の出現総数は25個体で前回と全く同様であつた。各発育別には larva—10 個体， nymph—5 個体および adult —10 個体で，larva が前回（7月 10 日）に比べ幾分多くなつている外はほとんど同様であつた。また大きさに関しては adult の大型種 (2000μ 以上) が，前回に比べ幾分減少を示した。8月4日の出現総数は 110 個体で，調査を通じてもつとも多かつた。発育別には larva が 58 個体でもつとも多く，ついで nymph—39 個体，adult—13 個体の順であつた。8月20日の出現総数は 18 個体で前回に比べ著しく減少した。発育別では nymph—6 個体，adult—12 個体であるが，今回はとくに前回頗る多かつた larva および adult の大型種 (1700μ 以上) がまつたく出現しなかつた。9月30日の出現総数ははなはだ少なく，わずかに4個体で，発育別には nymph—1 個体，adult—3 個体であつた。

Table 7. Number and size of individuals in different months.

Body length (μ) \ Date	'57, 5, 26	'57, 6, 19	'55, 7, 10	'57, 7, 20	'57, 8, 4	'57, 8, 20	'56, 9, 30
100～300	1	1	2	4	41		
301～500			5	8	20		
501～700		1			6	2	
701～900	1	3	7	2	29	3	1
901～1100		4(1♂)	1	3	4(1♂)	1	
1101～1300	1 (♂)	2 (♂)		1	2(1♂)	4(2♂)	1(♂)
1301～1500	1 (♂)	2(1♂)	2(1♂)	1(♂)	1	6(5♂)	
1501～1700	5(1♂)	3(1♂)	1 (♂)	3(♂)	5(4♂)	2 (♂)	2(♂)
1701～1900	6	1	1 (♂)		1		
1901～2100	13	22	1	1	1		
2101～2300			3				
2301～2500			2	2			

Table 8. Individual number of different developmental stages.

Date	'57, 5, 26	'57, 6, 19	'55, 7, 10	'57, 7, 20	'57, 8, 4	'57, 8, 20	'56, 9, 30
Larva	1	1	7	10	58		
Nymph	1	5	8	5	39	6	1
Adult	7	33	10	10	13	12	3

以上の調査結果から考えると本湖産 *Piona* (*Piona*) *carnea* (KOCH) の生活史はおおむねつぎのごとく要約される。すなわち larva および nymph の出現傾向からみると，本種の産卵期は6月下旬から8月上旬頃までで，最盛期は7月中旬から8月上旬頃と推知される。また adult の出現は larva の少ない 5～6 月

にはなはだ多く，larva の多い7月下旬以後にはなはだ少なかつたが，これは産卵後の ♀ が間もなく死滅するためであろうと思われる。さらに産卵の最盛期である7月下旬以後の adult はほとんど大部分が ♂ であつて，♀ はほとんど発見されなかつた。♂ は ♀ に比べ幾分長生きするもののごとくである。なお8月上旬に多量に出現した本種が，9月下旬に著しく減少し，わずかに4個体であつたが，8月上旬の larva および nymph が環境条件の悪変などで死滅したとは考えられず，また春季5月に ♀ の大型種が比較的多量に出現することなどから考えると，8月下旬頃からの水温の低下により本種の生活が漸次深層に移つたため採集できなかつたのであろうと思われる。このことは秋季および冬季の調査で全く出現しなかつたことからも推知することができる。

なお本湖には本種の外に *Arrenurus* sp. を産する。

IV. 要　　　約

1) 本研究は八ケ嶽火山湖沼群中の白駒池における浮游性ミズダニ，*Piona* (*Piona*) *carnea* (KOCH) の形態，生態，定量および季節的消長についての研究結果である。

2) 本種の出現期間は5月下旬から9月下旬までで，10月，11月，12月，1月および5月上旬には全く出現しなかつた。おそらく冬季は冬眠状態により越年するのであろう。

3) 本種は腐植性湿原池沼を好んで生活するようで，湖底の腐植性沈澱物は本種の生理上何か関係があるようである。

4) 本種の卵径の最大は 237.5μ で，また1個体における抱卵数の最大は 32 個であつた。

5) 本種の産卵の最盛期は，7月下旬～8月上旬で産卵後の ♀ は間もなく死滅するものと思われる。

6) ♀ の体長は ♂ のそれに比べ，すこぶる大きく ♀ の最大—2362.5μ にたいし，♂ は 1837.5μ であつた。

7) 本種の形態的特徴として palps および游泳肢の異常に長い個体が，全体の 4～5% 出現した。

終りに臨み本研究に当り，茨城大学文理学部今村泰二教授には，本種の同定，その他に関し格別の御指導を賜わつた。また本種の採集に当つては，北海道大学水産学部元田茂教授の特別の御配慮により，同大学研究室の貴重なるプランクトン定量採集ネットを使用させていただいた。さらに本種の標本の作製その他に関しては，日本大学農獣医学部細谷英夫教授に終始理解ある御助言を賜わつた。特記して深謝の意を表する。

文　　　献

1) UCHIDA, T.: *Bull. Biog. Soc. Jap.*, **6**, 171～182 (1936).
2) IMAMURA, T.: *Sci. Res. Ozegahara Moor*, 709～713 (1954).
3) ————————: *Jour. Hokkaido Gakugei Univ., Sec. B, Suppl.* **1**, 1～148 (1954).
4) 今村泰二: 動物学雑誌, **62** (10), 343～345 (1953).
5) 上野益三: 尾瀬ケ原総合学術調査団，研究報告，684～701 (1954).
6) 西条八束: 同上，118～127 (1954).

放射性同位元素によるニジマスの天敵の追跡

檜山義夫・能勢幸雄・清水　誠・松原純子
小野寺好之・児玉康雄・鈴木規夫

(1960 年 6 月 30 日受理)

PREDATION OF RAIN-BOW TROUT FRY TRACED BY RADIO-ISOTOPE.

Yoshio HIYAMA, Yukio NOSE, Makoto SHIMIZU, Junko MATSUBARA*
Koshi ONODERA, Yasuo KODAMA** and Norio SUZUKI***

Onodera and others[1)-4)] have investigated the reduction of number of trout fry after liberation since 1957, but the cause of the reduction was not known yet. In 1959's investigation, HIYAMA and others joined to assure the role of predation by using radio-isotope. Among 2034 individuals of rain-bow trout fry liberated (small size group 1.2 gr., large size group 2.7 gr. average), just a half of them was injected at back muscle by $^{65}ZnCl_2$ solution ($1\mu c$/0.03 cc per individual). No mortality rate, nor growth was affected by treatment during 2～3 month, while radio-activity remains distinctly above background, by external survey by G-M-survey meter. Water, soil, plants and animals in the vicinity were surveyed frequently after the liberation, but no radio-activity was found except adult trout survived since last year and the excrete of a bird (*Cinclus pallasii*).

Feeding adult trout by radio-active trout fry powder in aquarium, ratio of up-take (f_1= 0.24) was measured. Getting Zn^{65} amount in adult trout body caught in the stream (x cpm) and that in fry at that time (a_i), the number of trout fry taken by an adult trout (y) can be obtained by the formula;

$$y=\frac{x}{f_1}\times\frac{2}{a_i}\quad .$$

Substituting pigeon for *Cinclus pallasii*, the excretion ratio (amount of Zn^{65} in excrete in a day/amount of Zn^{65} in trout fry fed in a day), $f_2=0.84$, was obtained. By getting the average amount of Zn^{65} in an excrete of a bird ($\bar{x}$=100 cpm), and getting information on frequency of excrete (N) (126 times a day by a couple of bird) from Mr. Tadakazu ISHIHARA, the number of trout fry taken by a couple of birds in a day (y) can be obtained by the formula;

$$y=\frac{Nx}{f_2}\times\frac{2}{a_i}=20\quad .$$

By these informations, at the day 57 days after liberation when the last adult trout was taken (11 ind. altogether), it was enumerated that 33.5 individuals of fry were taken by adult trout, and 1140 by a couple of birds nested near the liberation point. On the other hand, ONODERA and others enumerated that 782 ind. of trout fry survived at that day by test fishing. So, the reduction of trout fry since liberation was 2034−782=1252 individuals. Among them 94% was caused by predation by eleven adult trouts and a couple of birds, and 97% of predation was by the latter.

はしがき

小野寺らは近年，ニジマス稚魚放流後の減少その他について研究[1)-4)]を行なつてきたが，その減少の原因

* 東京大学農学部 (Fish. Ins. Fac. of Agr., Tokyo Univ.)
** 淡水区水産研究所 (Fre. Fish. Res. Lab.)
*** 神奈川県水産指導所 (Kanagawa Pref. Fish. Lab.)

について疑問の点を残していた。この究明の方法として，放射性同位元素 (Radio-Isotope) を追跡子 (Tracer) として用いることを考え，1959 年度の淡水区水産研究所河川部と神奈川県水産指導所の共同調査に，新たに檜山らが参加した。実験河川は，すでに 1957 年以来小野寺らの使用していた神奈川県愛甲郡愛川町馬渡所在の中津川の支流である滝沢渓流（塩川）であり，地元津久井漁業組合の理解ある応援を得て行なわれた。滝沢渓流の江の島滝の滝壺に放流されたニジマス稚魚は，下流塩川滝の下にヤナを設けることにより流下を防止され，かつ，急峻で遊漁者の立入は不可能ではあつたが，この渓流のうち 330 米の実験区を禁漁区として密漁が監視された。放射性同位元素の野外使用については，原子力局放射線安全課に届出でた。

方　　法

放射性同位元素としては Zn^{65}（半減期 250 日）の塩化物を用い，その 30μc/cc の水溶液を，魚 1 尾（処理の時の平均体重，小型 1.2g，大型 2.7g）あたり，約 0.03cc づつ（ただし小型魚には僅かに少く），すなわち約 1μc づつ筋肉内注射を行ない，2 日後に死亡せるものを除いて，放流に用いた。放流数は 2034 尾で，そのうち Zn^{65} で標識したものは半数 1017 尾であつた。この Zn^{65} の 1 尾あたりの量は，万一，1 人 1 尾宛放流直後のニジマス稚魚を毎日食べ続けることがあつても，放射能許容量より 2 桁低いこと，および，これがかりにすべて河水に流出されても，それが飲料水としての許容濃度より 4 桁低くなるよう考慮された。

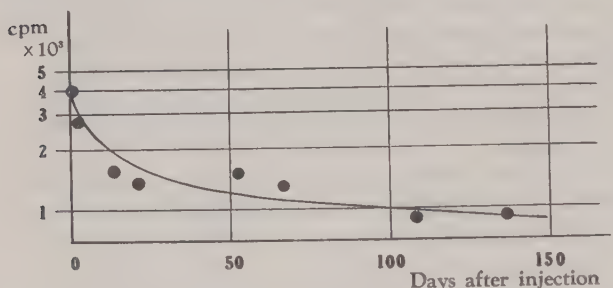


Fig. 1. Biological Decay of Zn^{65} in a Rain-bow Trout Fry.

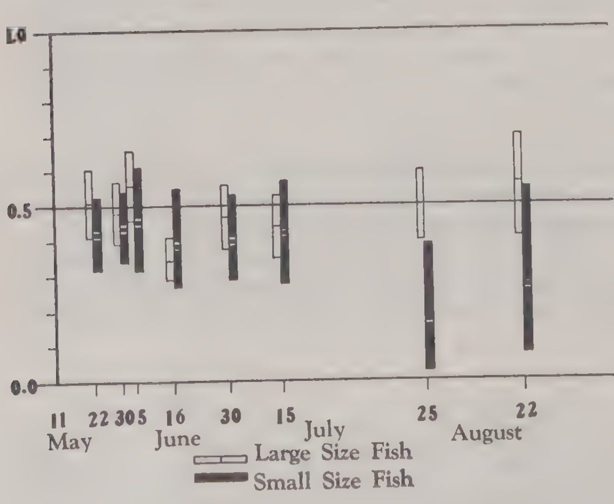


Fig. 2. Ratio of Radio-active Fish to Total Number of Fish in Test Fishing.

一方，普通のガイガーミュラー・サーヴェイ・メーターにより，魚体外よりγ線を検出して，注射後 2〜3 カ月までは標識魚と非標識魚とを明確に識別し得た。注射魚の放射能減衰（灰化後測定）は Fig. 1 に示す。この方法は，野外に放流する場合の放射能の安全性については，Co^{60} 針を用いた檜山・市川[5] の方法よりまさるが，魚体または被疑物を捕えてから近距離で検査しなくてはならぬ点で不便であつた。しかし，食害の定量（後述）が可能という特長をもつていることがわかつた。

魚に対する放射性同位元素を注射したことの影響は，標識魚と非標識魚の比が試験漁獲された生残魚について，たえず一定であつたこと（小型魚で放射能検知の精確さが落ちる約 3 カ月位まで）によつて，無視できるものと考えられる。(Fig. 2 参照) なお，Fig. 3 に示すように，標識魚と非標識魚の成長について差は認められていない。これは標識方法として腹腔内標識にまさる方法といえよう。

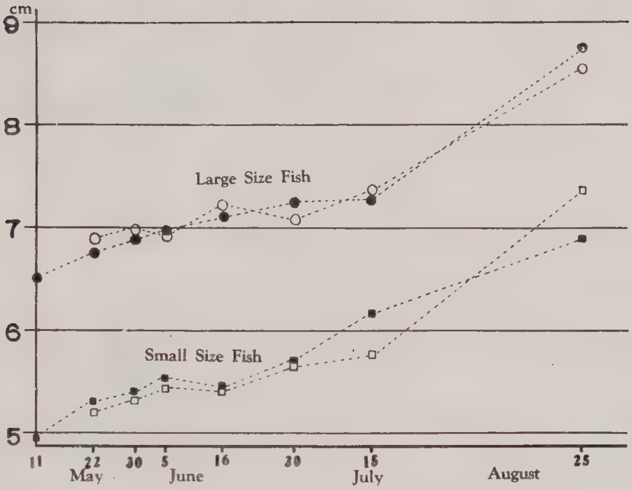


Fig. 3. Comparison of Growth between injected (black) and non-injected (white) Rain-bow Trout Fry.

探索の結果

放流後，数回にわたつて，渓流水際の植物，動物(マムシ，ヒキガエル，カジカ，カエル等)土，水などを外部から近接してサーヴェイ・メーターで放射能検査を行なつた。その結果，多くのものには Zn^{65} の存在は確認できなかつたが，昨年放流して生き残り，体長 15cm 以上に成長していたニジマス，ヤマメの親魚の捕えられたものと，岩上に白く点々としてある鳥糞（カワガラス）にこれが顕著に認められた。これによつてマス類の親魚とカワガラスとが，放流されたニジマス稚魚を食べたことが確認されたが，さらに何尾食べたかを推算するために次のような実験を行なつた。かつ，まず，魚体と鳥糞とは灰化して Zn^{65} の精密測定を行ない，次表のごとき結果を得た。(なおモクズガニに僅か (670 および 268cpm/g ash) の放射能を認めたが小野寺らが，径約 40cm，深さ 4cm の水槽に，かの親一個体を飼育し，これに死魚（アユおよびマスの幼魚）と，生きたニジマスの稚魚を与えて，観察した結果，死魚は食べても，断食させた後でも生きた魚は食べなかつたので，野外での食害はまず考えられず，何かの原因で死んだ魚を食べたものとみてよかろう。)

食害の定量法

第一にマス類親魚については，ほぼ同大のニジマスを水槽中に飼い，Zn^{65} を筋肉注射し標識放流に用いたニジマス稚魚を粉末にし，ジェリー状にして胃内に注入し，20 時間（十分消化管排泄がすんだとき）後，魚を殺して灰化して放射能測定をなし，それを与えた餌の放射能量で除して，摂取率（$f_1 = 0.24$）を求めた。これを用い，一方，Zn^{65} の生物学的減衰（物理的減衰+代謝排出）は，親マスでも稚マスでも同じという前提から，次の式によつて親マスの食べた稚マスの尾数 (y) を算定してみた。捕えられた親マスそれぞれについて得られた x と y の値は Table 1 に示す。

$$y = \frac{x}{f_1} \times \frac{2}{a_i}$$

ただし，x は親マス魚体中の Zn^{65} 放射能 (cpm)，a_i は親マスが捕えられた時点において野外の稚魚が保有していた放射能 (Fig. 1 より求める)。2 は RI 標識魚が総放流魚の 1/2 であつたので，全放流魚について求めるため。

次にカワガラスは捕獲できなかつたので，糞中の Zn^{65} の量 (x cpm) より，毎日現場をナワバリとした

Table 1. Predation of Rain-bow Trout Fry by Adult Trouts.

Large Trouts		Date caught		Locality caught	x cpm (Zn^{65} activity in Adult Trout)	y individual (Number of Fry Taken by Adult Trout)
Rain-bow	Trout	May	22	B－10	570	2.4
Mountain	〃	〃	30	A－10	80	0.4
〃	〃	〃	30	A－10	273	1.4
Rain-bow	〃	〃	30	A－ 7	683	3.5
〃	〃	〃	30	B－ 4	238	1.2
〃	〃	June	5	A－ 6	88	0.5
Mountain	〃	〃	16	A－ 8	1,176	7.3
〃	〃	〃	16	A－10	196	1.2
Rain-bow	〃	July	7	C－13	53	0.4
〃	〃	〃	7	C－ 8	70	0.5
〃	〃	〃	7	A－ 6	2,120	14.7
11 Individuals						33.5

一番いのカワガラスの食べたニジマス稚魚の尾数 (x) を求めるためには，食べた稚魚の中の Zn^{65} の量に対して排泄される量の比，すなわち排泄率 (f_2) を求める必要があるが，カワガラスの飼育は困難なので，ハトについて，親マスの場合と同様に，ニジマス稚魚を粉末にしたものをジェリー状にして胃内に注入し，排泄物を測定して，$f_2 = 0.84$ (24 時間後) の値を得た。ハトとカワガラスとの毎日の排泄回数 (N) に差があろうから，ハトの飼育で得た知識では不十分だろうと思つていたところ，かねてカワガラスの生態を研究しておられた京都大学理学部動物学教室の石原忠一氏より，カワガラス一番いにつき毎日 126 という排泄回数の資料を頂き，カワガラス糞中の Zn^{65} の量の平均 $\bar{x} = 100$ cpm (5〜420 cpm，6 月 5 日現在) という値から，次式によつてカワガラス一番いの食べるニジマス稚魚の尾数 y を求めた。

$$y = \frac{N\bar{x}}{f_2} \times \frac{2}{a_i}$$

a_i を糞の放射能の平均値を求めた 6 月 5 日の値 100 cpm をとると，$y = \dfrac{126 \times 100}{0.84} \times \dfrac{2}{1500} = 20$ となり，カワガラス一番いで，毎日 20 尾づつのニジマス稚魚を食べていたということになる。

結果の考察

一方，小野寺らは，渓流に生残するニジマス稚魚の尾数を算定し続けた（結果未発表）。その結果と，この食害の大きさとを比較するため，親マスの最後にとれた 7 月 7 日（放流後 57 日目）を基準として算定してみよう。放流 2034 尾（うち標識魚は 1/2）のうち同日までに生残したもの 782 尾（算定は小野寺らによる）である。この日まで，マス類親魚 11 尾により食害されたニジマス稚魚尾数は 33.5 尾，カワガラスにより食害されたものは 1140 尾 (20 尾/日 × 57 日) で，計 1173 尾となるから，減耗量すなわち放流量と生残量の差 2034 − 782 = 1252 尾との差は，79 尾となる。

この結果は，ニジマス稚魚の放流後約 2 カ月間に減耗したもののうち，マス類の親魚とカワガラスによる食害と考えられるものは 94% であり，そのうちカワガラスによるものは 97% である。（この算定法のうち鳥糞の放射能が採集の困難さ，変異の大いさなどにより，もつとも精度が低いと思われる。）

カワガラスは放流地点であつた江の島滝壺の岸に巣をいとなみ，放流後調査中に育雛していたのを認めたが，前記石原忠一氏の意見によると，がんらい食虫性の鳥が巣の前に稚魚を放流されたことにより，また育雛時ということにより，かくも多くの食害を与えたのではあるまいかとのことである。放流時の魚の大い

さ，放流地点などによつて，食害の大いさは異るものと思えるが，このような大きい食害を確認した事実とその決定に用いた新しい方法をここに報告する次第である。

本研究の費用の一部は農林漁業試験研究費によつた。

文　　献

1) 神奈川県水産指導所 (1958): 河川における養殖マス類の混合放流に関する研究—I, 1〜24, 同所(プリント).
2) 小野寺好之 (1958): 渓流区に放流したマス稚魚の生残に関する研究—I. 観察法による生残率の推定について. 本誌, **24** (6, 7), 435〜440.
3) 淡水区水産研究所・神奈川県水産指導所 (1959): 河川における養殖マス類の混合放流に関する研究—II. 実験第2年の諸相について. 1〜16, 同所.
4) 同上 (1960): 同上—III. 流量と生体量. 1〜35, 同所.
5) 檜山義夫・市川竜資 (1956): 放射性コバルトによる魚類標識法の研究 第1回日本アイソトープ会議, アイソトープ利用総覧, 554〜555.

網糸の伸びと捩れ偶力について

永　田　正

(1960 年 6 月 30 日受理)

TORQUE OF NETTING CORDS CAUSED BY ELONGATION

Tadashi NAGATA*

When a weight is hung down by a netting cord, the weight begins to rotate untwisting the cord. This shows that when a cord is elongated by tensile force, torque is induced in the cord. Between this torque and the elongation of a cord, there must be some complicated relation accompanying the phenomena of creep or relaxation.

In this experiment, test cords were elongated at constant speeds, and the torque-elogation curves were traced on an oscillograph screen and photographed on 35 mm film.

緒　論

網糸におもりを吊り下げると，おもりは糸の上撚りがほどける方向に回転をはじめ，糸はほどけて行く。これは糸に張力がはたらいて伸びると，糸の中には，糸の方向と同じ方向をもつたベクトルで表わされる偶力が生じることを示している。田内博士[1]はこの偶力の原因を，糸を構成している thread の捩れと撓みの偶力の釣合いが糸の伸びによつて破られるためであると説明した。この偶力の測定は今までに殆んど行なわれていない。この偶力と伸びとの関係は弾性体の歪と応力の関係のように簡単な一価関数で表わされることは期待できず，クリープや緩和を伴なう複雑な関係のあることが予想される。ゆえにその測定方法としては種々の重さのおもりを糸に吊り下げ，おのおののおもりに対する糸の伸びと偶力の大きさを測定して行くというような，いわゆる静的な方法は不適当である。このような場合に応用できる測定法としては種々な方法が考えられるが，本実験においては手はじめに最も簡単な方法として，歪速度を一定にする方法，すなわち糸を一定速度で伸ばし，そのときの偶力の変化を連続的に記録させる方法を用いた。

実 験 方 法

実験装置の概要は Fig. 1 に示してある。上端を固定した針金 A の下端に試料となる網糸 T の上端を結びつける。針金 A の下端にはこれと直角に腕 B が取付けてあり，その先端には厚紙の遮光子 C が水平にはりつけてある。試料 T の下端は金属丸棒 E に結びつけてあり，この丸棒 E は垂直に固定されている金属製中空円筒 D の内壁に沿つて上下に滑べることができる。E の下部には太い紐 F の一端が結びつけてあり，紐の他の端は円筒 D の真下にあるプーリ P に巻きつけてある。

プーリ P にベルトを介してモーターで一定速度の回転を与えると，E に結びつけてある紐 F の端が一定速度で巻き取られるから，E が一定速度で下方に動き，したがつて試料 T は一定速度で伸ばされる。このとき網糸 T には偶力が生じるので針金 A は捩じられ，その下端に取り付けられた腕 B もそのつけ根を中心として回転する。そのとき腕 B の先端にはりつけられている遮光子 C は光電管 G を入れてある容器の下面にある窓 W の下で回転運動をするので，豆電球 H から出て窓 W を通つて光電管 G に入射する光の量が，針金 A の下端の回転角に比例して変化する。Fig. 2 は窓 W の部分を下から見上げた図であつて，C の回転によつて W の開口部の面積が変化する模様を示している。光電管に入射する光量の変化によ

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

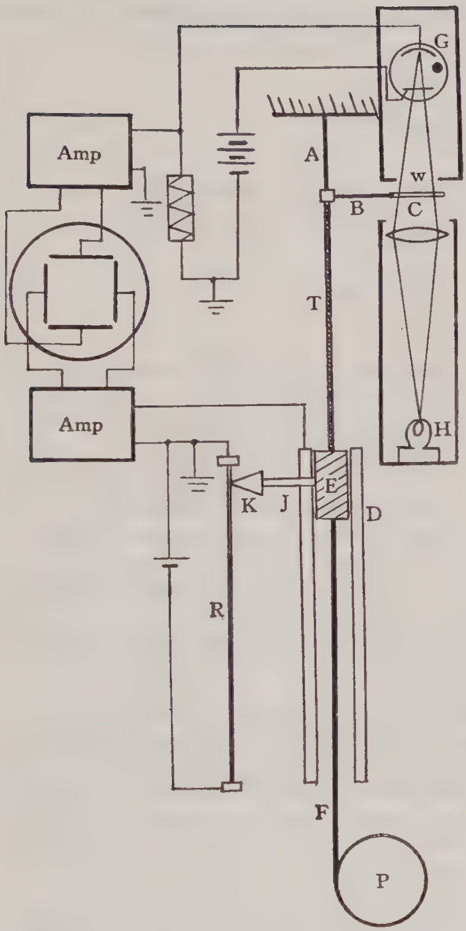


Fig. 1. The arrangement of apparatuses. T: a test cord. A: a metal wire. When a test cord is elongated, the wire is twisted by the torque induced in the cord. P: a pulley rotated at constant speeds to elongate the test cord by means of a rope (F). E: a metal rod which can be slided inside a metal cylinder (D). C: a light beam controller. G: a photocell.

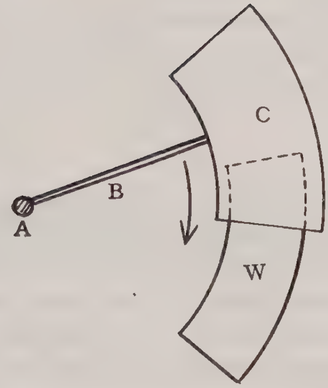


Fig. 2. The diagram showing how, in Fig. 1, the amount of light beam passing through the window (W) is changed by the movement of the controller (C) being rotated about the wire (A) when the wire is twisted by the torque of the test cord.

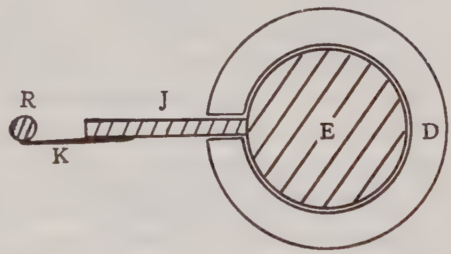


Fig. 3. The cross section of the cylinder (D) and the rod (E) illustrated in Fig. 1.

る光電流の変化は，増幅器で増幅されたのちブラウン管の垂直偏向板に印加される。円筒 D の側壁には円筒の軸に沿つて一様な幅の溝が切りこんであり，この溝にちようどはまる太さのビス J が丸棒 E に取り付けてあるので，丸棒 E が網糸 T を引張りながら円筒 D の内側を移動するとき，T に生じる偶力のために E が回転することはない。この部分は Fig. 3 に円筒 D の断面図によつて示してある。ビス J の先端には接触子 K がつけてあり，E が移動すると K は垂直に張られている抵抗線 R 上を摺動する。抵抗線 R には一定電流が流してあるから，R の始端と K との間の電位差によつて，E の移動距離すなわち網糸 T の伸びが分かる。この電位差も増幅器で増幅された後ブラウン管の水平偏向板に印加される。このようにしてプーリ P を回転させると網糸 T は一定速度で引き伸ばされ，そのときの伸びと偶力の関係を示す曲線がブラウン管のスクリン上に画かれる。これを 35 mm フィルムに撮影する。

試料 T の上端の回転角が大きいと，測定された偶力の大きさが実際より小さく出るおそれがあるから，試料の種類に応じて針金 A の長さと太さを適当に選び，B の回転角を 10 度以下に押さえるようにした。伸びの速度はプーリ P の直径と回転速度によつて変化させることができるが，糸の偶力はあまり大きくな

いから針金 A の振れ常数も小さいし，また回転角の測定感度をあげるためには腕 B を長くしなければならないので，その慣性能率をある程度以上小さくはできない。したがつて針金 A と腕 B で構成される振動系の固有振動数を大きくできないから，網糸を引き伸ばす速度はあまり大きくできない。ゆえに，たとえば糸を衝撃的に切断する場合には上記の方法に改良を加えなければならぬ。

実 験 結 果

20 番手 2 号の綿糸およびクレモナについて撮影した偶力と伸びの関係を示す曲線は Fig. 4 のようになる。伸びの速さを毎秒 0.6～3% の間で変化させてもこの曲線の形はほとんど変らない。また綿糸とクレモナの曲線の形は非常に接近していて，クレモナの方が偶力は幾分小さい。ただし綿糸の撚り数は，10 cm につき上撚り 48，下撚り 87 であり，クレモナは同じく上撚り 38，下撚り 75 である。針金 A の固有振動数をできるだけ大きくするためにはその下端に複雑な装置をつけることができない。それゆえ試料の上端は簡単に結びつけてあるだけなのでチャック切れを起こす。ことにその傾向はクレモナにおいて顕著であるので，Fig. 4 から得られる破断時における伸長度は必ずしも信頼できない。しかしながらこの実験は破断試験を目的としているのではなく，立ち上がりの部分における偶力と伸びの関係はチャック切れの有無にかかわらず同じはずである。

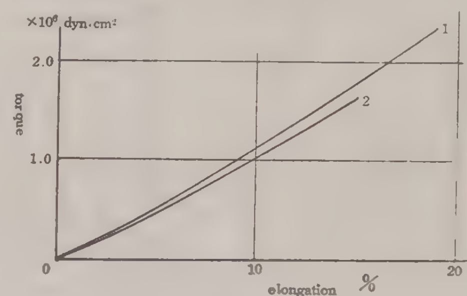


Fig. 4. The torque-elongation curves.
curve 1: 20′s 3/6 cotton cord.
curve 2: 20′s 3/6 cremona cord.

張力による伸びを生じたとき上記のような偶力を生じるということは金属材料等では見られないことで，網糸の研究には重要な役割りをすると思われるが，この実験で得られたデータだけでは不充分であつて，クリープの測定，振動法による実験等をもあわせて行なう必要がある。これらの実験は目下進行中であるのでその結果は近く発表する予定である。

文　　　献

1) 田内森三郎: 水講試報, **25**, 31 (1929).

有用海藻類の地理的分布と水温との関係について

遠　藤　拓　郎・松　平　康　雄

(1960 年 7 月 1 日受理)

CORRELATION BETWEEN WATER TEMPERATURE AND THE GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF SOME ECONOMIC SEAWEEDS

Takuo ENDO and Yasuo MATSUDAIRA*

The authors reviewed available data on the geographical distributions of five species of seaweeds that are found on the coasts of Japan and are of considerable economic importance, and it was examined what relations are found between these algal distributions and the annual averages or annual cycles of the surface water temperature at the 38 coastal stations. The results are as follows:

1. The palatable brown alga "wakame", *Undaria pinnatifida* (HARV.) SUR., is distributed in the waters where annual average of surface water temperature is within the range of 10～19°C. Annual landing of this seaweed is greater in the waters having annual average surface temperatures of about 12°C and about 19°C than in those having any other temperatures.

2. Among the agar-agar seaweeds, *Gelidium Amansii* LAMX., *G. japonicum* (HARV.) OKAM. and *Acanthopeltis japonica* OKAM. are distributed in the waters where annual average of water temperature is not lower than 10, 16 and 17°C respectively.

3. The laver, *Porphyra tenera* KJELLM., is distributed in the waters where water temperature averages 11～21°C annually.

4. Examination of the annual cycle of water temperature indicates that the growth and distribution of most of these seaweeds are probably affected critically by the water temperatures in a particular period or certain periods of the year rather than by the annual average temperatures, especially near the borders of the distribution range.

Since the geographical distributions of the above-named seaweeds along the Japanese coasts is thus closely correlated to the annual average and annual cycle of surface water temperature, it seems that the latter can be used as a criterion in selecting the suitable sites for the artificial propagation of these seaweeds.

沿岸・浅海で水産増殖事業を行なう際，対象生物の生育に適した環境条件をそなえた水域を選び，または水域の環境条件をそのように改善する必要があることはいうまでもない。着生性有用海藻の増殖事業において考慮すべき環境要素としては，従来，水温・塩分・栄養塩・照度・水の流動・着生面の性状等があげられている。

このうち，水温については多くの報告があり，沿岸観測点での水温値が各種有用海藻の地理的分布ないし漁獲量の年変動（豊凶）と高い相関を示すことが指摘され，これに基ずいて，増殖適地選定の際にも沿岸水温値が重要な基準として用いられてきた。

今回は，わが国の重要な増殖対象海藻であるワカメ・テングサ類・アサクサノリについて，従来好適水温として報告されている値を検討し，あわせて，水温条件が好適と考えられるにかかわらず海藻の生育が著しく妨げられているような場合がないかをしらべる目的で，日本沿岸におけるこれらの海藻の地理的分布と，そこにおける沿岸水温値（年平均および周年変化）との関連性を，既往の資料によつて調査した。

* 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish. and Anim. Husb., Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan).

本文に入るに先立つて，援助下さつた広島大学藤山虎也・小山治行両助教授に深く感謝する。また本研究は昭和 34 年度農林省漁業試験研究費によるものである。

資　　料

沿岸水温値（以下水温と略す）は，東海区水研（または農林省水産試験場）編「海洋調査要報」沿岸定地観測表から，38 点を選んで用いた。値は 1918 および 19 年から 1950 年まで，一部は 1943 年までの 20 数カ年の平均である。アサクサノリ養殖場の水温は，福島・東京・静岡・愛知・鹿児島の各県水試の報告から，1956 または 57 年の分を用いた。

参考のため，同様にして塩素量の値（大部分は比重から換算）も用いた。

以上の水温・塩素量はともに表層の値で，海藻生育層の値は得られなかつたが，ここでは両者は似た傾向を示すものとみなして，表層の値のみを用いた。

漁獲量は，農林省「漁業養殖業漁獲統計表」から，1955～57 年の 3 カ年分の平均をとり，用いた。

結　　果

1) ワ カ メ

ワカメ *Undaria pinnatifida* (HARV.) SUR. は本邦沿岸に広く分布する。新崎[1]によれば，太平洋岸では北海道室蘭から宮崎県門川湾まで（ただし伊豆七島・潮岬・高知県沿岸等には分布しない），日本海沿岸では礼文島から鹿児島県まで分布する。

そこで，本邦沿岸 36 点において，ワカメの分布の有無と年平均水温・塩素量とを対比させると Fig. 1 になる。図からみられるように，ワカメの分布する水域の年平均水温は，10～19°C の範囲である。これは新崎[1]や木下[2]が得た，年平均水温 10°C 以上 20°C 以下の水域に分布する，という結果と一致する。

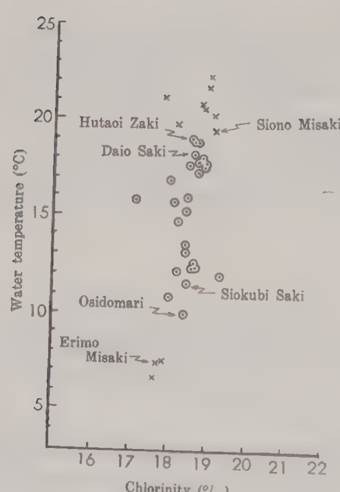


Fig. 1. Relation between the distribution of *Undaria pinnatifida* and the annual average temperature and chlorinity of the surface water. Each dot or cross represents a coastal station.
⊙ *U. pinnatifida* distributed.
× 〃 not distributed.

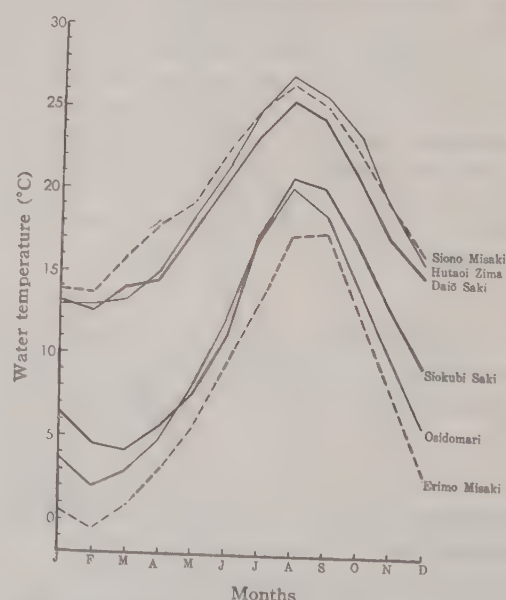


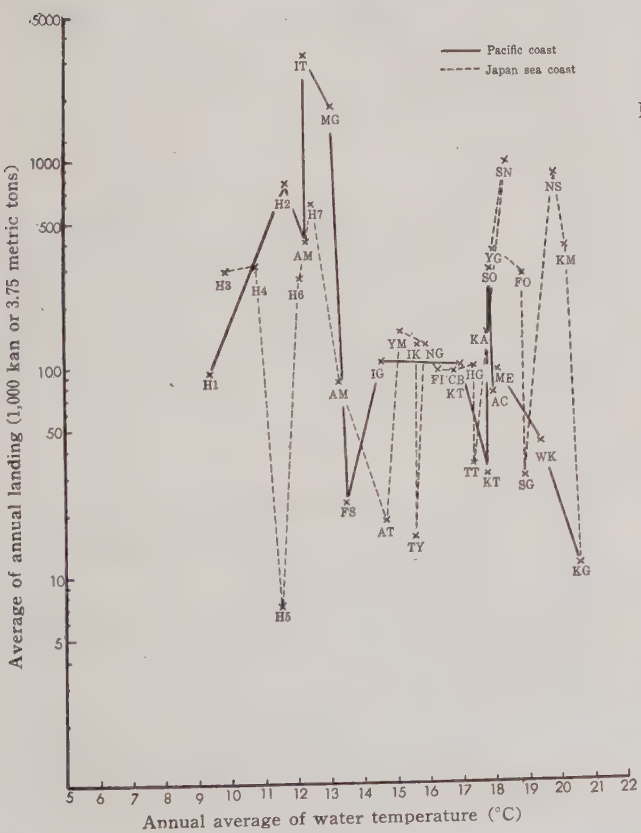
Fig. 2. Annual cycle of surface water temperature near the borders of the distribution range of *Undaria pinnatifida*.
—— *U. pinnatifida* distributed (Pacific coast).
—— 〃 〃 (Japan sea coast).
- - - 〃 not distributed (Pacific coast).

なお，上記の沿岸定点における塩素量の年平均は 17〜19.5‰ となるが，資料が適当でないため，ワカメの分布を制約する上・下限値は不明である。

次に，分布の限界附近における水温の周年変化をみると Fig. 2 になる。図から，分布の北限においてはワカメの分布している水域に比して，分布しない水域の月平均水温は，全般的に低く，特に 1〜3 月と胞子放出期に当る 7・8 月にそれが著しい。新崎[1] が寒冷域においては 5°C 以下の水温の出現状態がワカメの分布の制限要因ともみられると報じ，また木下[3] が北海道寿都地方における年々の採取高は前年の 8 月および採取年の 1〜3 月の水温と正相関を示すと報じたことを考えあわせると，分布の北限附近においては，上記の季節（1〜3 月および 7・8 月）における低水温がワカメの生育・分布を著しく制約していると考えてよいようである。

また分布の南限附近においては，ワカメの分布しない水域では分布域に比して 4 月前後に高い水温がみられ，またこの時期は胞子放出期に当る。これは，新崎[1] が暖水域では 25°C 以上の出現状態が分布の制限要因ともみられると報じ，また川名[4] が越前地方で年々の採取高と前年 6・7 月および採取年の 5 月の水温との間に負の相関をみたことなどから，分布域の南限附近においては 4〜8 月の高水温が分布を制約していると考えられる。

次に，太平洋・日本海沿岸における各県別の漁獲量と，その水域の年平均水温の推定値とを Fig. 3 に示した。この図でみると漁獲量の多い水域は，2 群に大別されるようである。すなわち，1 群は岩手県を中心とする水温 12°C 附近，他の 1 群は島根・長崎県を中心とする水温 19°C 附近である。漁獲量 (catch) と



Pacific coast:

H 1 : Iburi	H 2 : Oshima
AM : Aomori	IT : Iwate
MG : Miyagi	FS : Fukushima
IG : Ibaragi	CB : Chiba
TK : Tokyo	KA : Kanagawa
SO : Shizuoka	AC : Aichi
ME : Mie	WK : Wakayama
KG : Kagoshima	

Japan Sea coast:

H 3 : Soya	H 4 : Rumoe
H 5 : Ishikari	H 6 : Shiribeshi
H 7 : Hiyama	AT : Akita
YM : Yamagata	NG : Niigata
TY : Toyama	IK : Ishikawa
FI : Fukui	KT : Kyoto
HG : Hyogo	TT : Tottori
SN : Shimane	YG : Yamaguchi
FO : Fukuoka	SG : Saga
NS : Nagasaki	KM : Kumamoto

Fig. 3. Annual landing of *Undaria pinnatifida* in each prefecture as correlated to average water temperature.

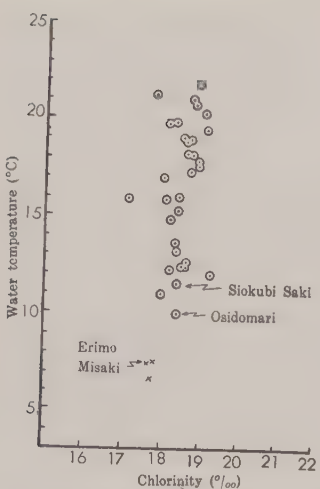


Fig. 4. Relation between the distribution of *Gelidium Amansii* and the annual average temperature and chlorinity of the surface water. Each dot or cross represents a coastal station.
⊙ *G. Amansii* distributed.
× 〃 not distributed.

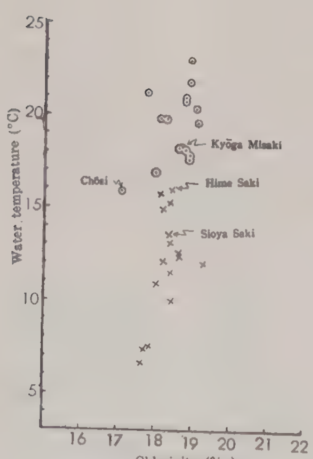


Fig. 5. Relation between the distribution of *Gelidium japonicum* and the annual average temperature and chlorinity of the surface water. Each dot and cross represents a coaotal station.
⊙ *G. japonicum* distributed.
× 〃 not distributed.

生育している量 (stock) との関係は不明であるが，漁獲の多い水域では生育量も大きいとみなせば，上記の2水域で漁獲されるワカメは互に生育適水温——したがつて生態的特性——が異なるようにも考えられる。しかし，この点については，更に綿密な検討が必要であろう。

2) マクサ

マクサ *Gelidium Amansii* LAMX. の分布は緯度的に広く，太平洋沿岸では室蘭以南，日本海沿岸では礼文島以南に分布し，南限は明かでないが台湾・マレー半島にも分布する[5,6]。

本邦沿岸におけるマクサの分布と年平均水温とを対比させると Fig. 4 になる。図から，マクサの分布水域の年平均水温は10°C 以上であることがわかる。これは木下[7,8] の報告と一致する。また分布域の年平均水温の上限については不明であるが，台湾南端における年平均水温が 26°C 前後であることから，26°C 以上と推定される。

分布の北限は，ワカメのそれと一致し，したがつて北限附近における水温周年変化も同様で，分布しない水域の月平均水温は全般的に低いが，特に2月前後と8月前後に著しい。これは，木下[7,8] が北海道におけるテングサ*で認めた，月平均水温 2°C 以下の水域に分布しないことや，豊凶が 12～2 月の水温と正相関を示すことなどから，分布の北限附近においては冬期の低水温がマクサの分布・生育を制限していると考えられる。

次に，太平洋・日本海沿岸別の各県のテングサ漁獲量と年平均水温の推定値とを対比させたが (図省略)，東京都・静岡県で漁獲が特に多いことが目につく[13]。しかし，これは統計表に「テングサ類」として一括された漁獲量であり，マクサのみの漁獲量は不明であるため，後者と水温との関係を検討することはとりやめた。

3) オニクサ

オニクサ *Gelidium japonicum* (HARV.) OKAM. の分布は，太平洋沿岸では茨城県以南，日本海沿岸では兵庫県以西で[5]，南西諸島・台湾北部にも分布する[6,10]。

オニクサの分布と年平均水温とを対比させると，Fig. 5 になり，本邦沿岸における分布水域の年平均水温は 16～23°C である。しかし分布の南限では 23°C より高目であろう。

北限附近における水温の周年変化をみると，Fig. 6 となる。図から，分布しない水域では月平均水温が2月前後の冬期に低く，この低水温が分布を制約していると考えられる。

* 原著[7] によればマクサ，ナンブクサ，ヨレクサ，オバクサを一括した呼称。

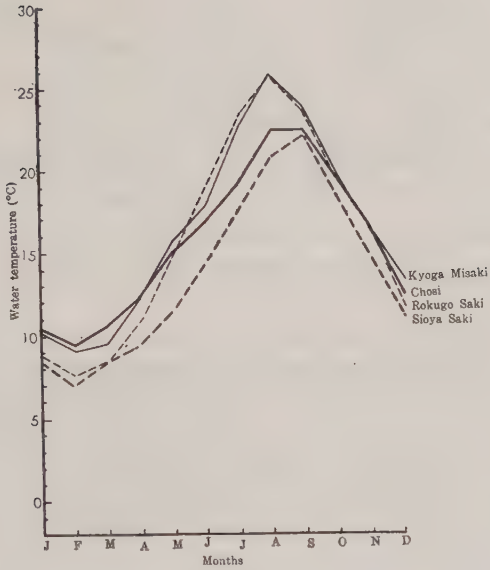


Fig. 6. Annual cycle of surface water temperature near the borders of the distribution range of *Gelidium japonicum*.
—— *G. japonicum* distributed (Pacific coast).
———— 〃 〃 (Japan Sea coast).
- - - - - - - 〃 not distributed (Pacific coast).
- - - - - - - 〃 〃 (Japan Sea coast).

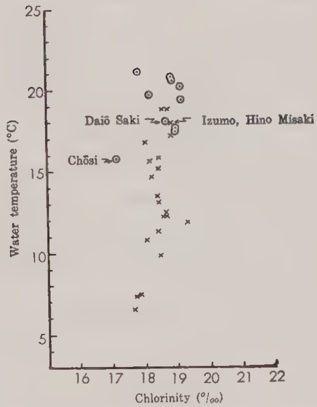


Fig. 7. Relation between the distribution of *Acanthopeltis japonica* and the annual average temperature and chlorinity of the surface water. Each dot or cross represents a coastal station.
⊙ *A. japonica* distributed.
× 〃 not distributed.

4) ユイキリ

ユイキリ *Acanthopeltis japonica* OKAM. の分布は，房総以南の太平洋岸及び九州北岸である[5,6]。

これを，年平均水温と対比させると，Fig. 7 になる。すなわち，本邦沿岸における分布水域の年平均水温は 17～21°C である。しかし，日本海沿岸では，この範囲内の水温を示す水域でも分布していない。またユイキリの分布の南限およびそこにおける水温は不明である。

次に，太平洋沿岸の分布水域と日本海沿岸の分布しない水域との水温の周年変化をみると，日本海沿岸は太平洋岸に比べて，年平均水温は似ていても，月平均水温は冬期に低く夏期に高い傾向がみられる。しかし出雲日御崎附近など最高・最低の月平均水温が，太平洋岸の分布域の周年変化を越えない水域がある[13]。

以上の点から，ユイキリが日本海に分布しないのは水温以外の要因によるもののように思われる。

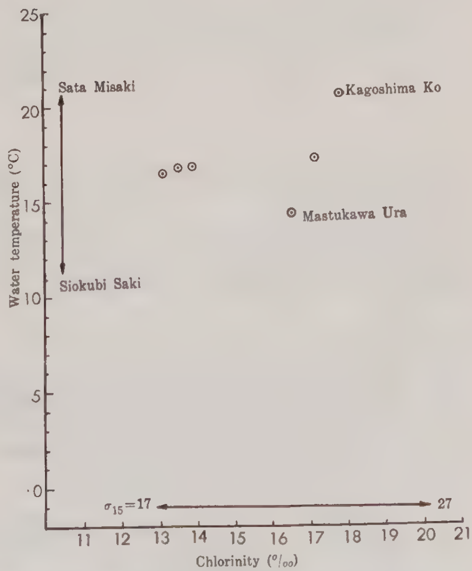


Fig. 8. Relation between the distribution of *Porphyra tenera* and the annual average temperature and chlorinity of the surface water. Each dot represents a coastal station.

5) アサクサノリ

養殖アサクサノリの場合，生活史の諸段階でかなり行き届いた藻体・環境の人工管理がなされ，これに伴

い適水温も詳細に調べられているので，前出の海藻と同様に取扱うことには問題があるが，今回の調査方法の限界を知る意味で，一応同様の方法で検討してみた。

現在日本で「アサクサノリ（黒ノリ）」と称して養殖されているノリは，植物分類学的にみてアサクサノリ *Porphyra tenera* KJELLM. の他に数種の近縁種が混つており，また *Porphyra tenera* の中にいくつもの品種が区別でき，しかもこれらの種・品種の混合割合が漁場や年により異なることがすでに指摘されている。適水温・地理的分布等の問題は，本来これらの種・品種のおのおのについて個別に論ずべきであるが，現在それだけの資料がないので，かりに「養殖アサクサノリ」として一括して取扱つた。

資料の得られた数カ所のアサクサノリ養殖場における年平均水温及び塩素量は Fig. 8 の通りで，それぞれ 14～20°C, 13～18‰ の範囲である。

殖田[5]によれば *Porphyra tenera* は，北海道西南部から九州に至る太平洋・日本海両沿岸に分布するという。この分布水域の年平均水温は 11～21°C である（Fig. 8 縦軸矢印）。また同種の分布水域の年平均塩素量は 13～20‰ であるという（Fig. 8 横軸矢印）。これらの値を採用するならば，分布水域の年平均水温・塩素量の範囲は，前出の養殖場のそれよりやや広いことになる。

結　　論

ワカメ・マクサ・オニクサ・ユイキリ・養殖アサクサノリにおいて，年平均水温・水温周年変化が，生育・分布を支配する一つの要因とみなし得る。

また，ユイキリの日本海沿岸への分布を制約している要因は，水温の年平均・周年変化以外のものではないかと考えられる。

要　　約

1. 浅海漁場で養・増殖の対象となる有用海藻類の分布範囲と，そこにおける水温の年平均・周年変化とを，既往の資料によつて比較検討した。

2. その結果

i）ワカメの分布する水域の年平均水温は，10～19°C で，漁獲量の多い水域は平均水温 12 および 19°C の二群に大別されるようである。

ii）テングサ類については，マクサの分布水域の年平均水温は 10°C 以上，オニクサでは 16°C 以上，ユイキリでは 17°C 以上である。

iii）アサクサノリの分布水域の年平均水温は 11～21°C である。

iv）更に，水温の周年変化をみると，特定時期の水温が，これら海藻の生育・分布に重要な要因であると考えられる。

3. 沿岸水温値の年平均及び周年変化は，これらの有用海藻類の地理的分布と非常によく対応しており，後者を支配する主要な要因であると考えられる。

文　　献

1) 新崎盛敏：海藻類の生育と水温（II）．水産増殖，**6**(2) (1958).
2) 木下虎一郎：コンブとワカメの増殖に関する研究．(1947).
3) 木下・柴田：北海道寿都地方におけるワカメの豊凶と海水温度との関係について．本誌，**3**(4) (1934).
4) 川名　武：越前地方ワカメの豊凶と水温ならびに気象要素との関係．水研誌，**32**(5) (1957).
5) 殖田三郎：水産植物学．(1933).
6) 瀬川宗吉：原色日本海藻図鑑．(1957).
7) 木下虎一郎：テングサの北限を制約する要因．海洋の科学，**2**(6) (1942).
8) 須藤俊造：テングサの増殖．水産増殖叢書，No. 8 (1954).
9) 岡村金太郎：日本海藻誌．(1956).
10) 殖田三郎：海苔養殖読本．(1958).
11) 田村　正：水産増殖学．(1958).
12) 東海区水研：海洋調査要報，No. 71, 72, 74 (1943, '51, '52).
13) 遠藤拓郎・松平康雄：ワカメ・テングサ・アサクサノリの分布と水温との関係について．昭和34年度農林漁業試験研究費補助金による研究報告書添付資料 (1960).（とう写刷）

Centropages abdominalis SATO のノープリアス幼生*

古 賀 文 洋

(1960 年 7 月 1 日受理)

THE NAUPLIUS LARVAE OF *CENTROPAGES ABDOMINALIS* SATO

Fumihiro KOGA**

The Copepoda nauplii are herbivore, preyed by the larvae of Pisces, Crustacea, Sagittoidea and the others which prey upon the nauplii. They may assume an important rôle in the food chain in the sea.

Centropages abdominalis SATO occurs usually in rather large numbers in January, in the north western coast of Kyushu. In this season the plankton community is dominated by Bacillariaceae, especially by *Thalassiosira subtilis* (OSTENFELD).

In rearing the female specimens of *C. abdominalis* were placed in the jars filled with the water (Cl^{-}-19.06‰). *Skeletonema costatum* (GREVILLE) and *Stephanophixis palmeliana* (GREVILLE) GRUNOW were placed in the jars for a fresh supply of the food or oxygen.

The number of eggs produced by *C. abdominalis* ranged from 120 to 130 with an average of 122 eggs per brood. The egg is semitranslucent with light green in colour. The pelagic egg is 0.075 mm in diameter having many setae on the surface. The length of the setae is from 0.02 mm to 0.04 mm. The egg is very similar to *Haliocladus* (Radiolaria) in structure.

The nauplius is pyriform, and slight pointed posteriorly and quite rounded anteriorly. The nauplius retains red brown in the posterior region. The dark red eye-spot is comparatively large at the proximal portion of the rostrum. The nauplius is very similar in structure to that nauplius of *Centropages hamatus* (LILLJEBORG) described by M. OBERG (1906). After hatching, the larva developed into the nauplius VI which is the final stage of nauplius within about 10 days at the water temperature 15.4°C.

暖流系浮游生物は九州北西岸では 11, 12 月に多数出現するが, 1 月になるとこれらはほとんど消滅し, 代つて硅藻類特に *Thalassiosira subtilis* (OSTENFELD) が非常に増大する。この時一時的に copepoda の *Centropages abdominalis* SATO が増加する。*Centropages abdominalis* は沿岸性で冷水系に属し, 北海道近海では夏季に出現し, 九州北西岸では冬季に出現する。MORI (1936)[1] は北海道近海で本種を採集している。

Copepoda の nauplii は草食動物であり, Pisces, Crustacea, Sagittoidea を初め多くの種類の幼生の餌料として重要であり, 海洋の生産機構に重要な役割をなしている。Nauplius の形態は親とは全然異なり, その間の関係を知ることはきわめて困難である。この関係を明らかにするには親を採集して飼育し, 産卵孵化させるかあるいは天然で採卵し, 親まで飼育することが必要である。Copepoda の場合は前者が多く採用されている。著者も前者を採用した。

材料および方法

採集した *Centropages abdominalis* SATO を予め沪過海水を入れた 500 ml 容量の広口瓶中に移した。

* 九州大学農学部附属水産実験所業績

** 九州大学農学部水産学科 (Dept. Fish., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

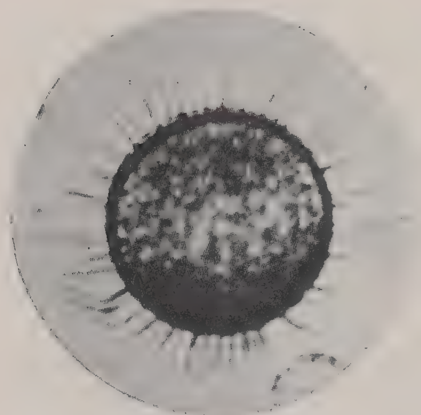


Fig. 1. The egg of *Centropages abdominalis* SATO. × 400.

その際1個の飼育瓶中に1個体を入れるようにした。産卵後卵と親とは別の容器中に分離した。水温は 15.4°C に保ち，塩素量は 19.06‰ である。餌料及び酸素補給のため予め培養しておいた *Skeletonema costutum* (GREVILLE) および *Stephanophixis palmeliana* (GREVILLE) GRUNOW を投入した。

結　果

卵 (Fig. 1)

Centropages abdominalis の産卵数は 120～130 個で平均 122 個である。卵は直径 0.075 mm で表面に多くの刺毛を持ち，刺毛の長さは約 0.02～0.04 mm の浮游性卵である。その形態は丁度 Radiolaria の *Haliocladus* に極似している。1個体の親より得られた卵においてもその刺毛にさまざまの変化が見られる。たとえば刺毛の先端が真直なもの，弯曲したもの，先端が 2～3 個に分岐したもの，また1個の卵においても一部分の刺毛は真直に伸びているが，他の部分の刺毛はその先端が分岐しているものなどが存在する。



Nauplius larvae (Fig. 2)

体形は卵円形である。体の前縁に半円状の rostrum が突出し，その基部に赤い眼点が存在する。腹側前方に labrum があり，その周囲に3対の附属肢が存在する。Nauplius は体後半が赤褐色であるが，他の部分は無色透明である。

Nauplius 期には 6 stages がある。その期間の長さを 1960 年1月 10 日に産卵させて得た卵について観察した。ある卵は1日目の翌1月 11 日の早朝に孵化し Nauplius stage I になつたが，ある卵は産卵後2日目に孵化した。以後は生育の早い

Fig. 2. Seven nauplii in six stages of *Centropages abdominalis* in ventral view. × 150. 1-3, Stage I-III; 4a, 4b, Stage IV; 5, 6, Stage V-VI.

個体について nauplius の各期間と体長を見た (Table 1)。

Table 1. The duration and the size of nauplius of *Centropages abdominalis* SATO.

Stage	Egg	Nauplius I	II	III	IV	V	VI
Date (1960)	Jan. 10,	Jan. 11,	Jan. 12,	Jan. 14,	Jan. 16,	Jan. 20,	Jan. 22,
Duration	0.5 day	1 day	2 days	2 days	4 days	2 days	—
Size in mm.	0.075	0.10	0.143	0.187	0.223	0.256	0.284

Nauplius の附属肢 (Fig. 3)

C. abdominalis の nauplius の各附属肢は M. OBERG (1906)[2] によつて記述された *Centropagidae* の *Centropages hamatus* (LILLJEBORG) のそれと非常に類似している。

Antennule (**第 1 触角**) (Fig. 3, 1-6): 各期はいずれも 3 節よりなる。第 1 節には短い刺毛があるが，stage IV 以後消失する。第 2 節端末にある 1 刺毛は各期に見られる。これは *C. hamatus* および M. JOHNSON (1934)[3] の *Tortanus discaudatus* (THOMPSON and SCOTT) では 2 個である。端節の刺毛は stage I で 3 個，stage II では短い 1 刺毛が更に生じて 4 個となる。Stage II 以後末刺数は増加しないが，端節背側に刺毛が生じ，stage III で 2 個，stage IV で 4 個，また stage V, VI では 6 個である。なお stage VI で背側と先端部に小棘が生じる。

Antenna (**第 2 触角**) (Fig. 3, 7-12): 底節，基節，内肢 (endopodite) と外肢 (exopodite) よりなる。Stage I-III の底節内側に 2 個の刺毛があるが，これは stage IV-VI では 4 個となる。基節基部の長い刺毛は各 stage にみられ，基節中央部の 1 刺毛は stage IV 以後 2 個となり，また内側上縁に 1 個の刺毛がある。内肢内側中央部には stage II, III で 2 個，stage IV で 3 個，また stage V, VI では 4 個の刺毛がある。末刺は stage I で 2 個，stage II で 3 個，stage III, IV で 4 個，また stage V, VI では 4 個の刺毛と 1 個の短刺毛よりなる。外肢は stage I では 3 節で端節に 2 個，他節にはおのおの 1 個の刺毛を有す。Stage II は 5 節で端節に 2 個の末刺，他節に各 1 個の刺毛を有す。Stage III は 6 節で端節に 3 個，他節に各 1 個の刺毛がある。Stage IV, V もまた 6 節で端節に 3 個の末刺，第 1 節に 2 個，また他節に各 1 個の刺毛がある。

Mandible (**上顎**) (Fig. 3, 13-18): 底節，基節，内肢および外肢よりなる。底節の内側に stage II, III では短い 1 個の刺毛がある。これは stage IV-VI では太く長い masticatory process となる。基節内縁には stage II, III で 3 個の刺毛，stage IV-VI では 4 個の刺毛が存在する。内肢内側基部の膨出部の刺毛は *C. hamatus* は stage II ですでに 4 個であるが，これは stage II, III では 3 個，stage IV-VI で 4 個である。内側中央部に 2 個の刺毛が各 stage にあり，末刺は stage I に 2 個，stage II-VI では 4 個である。外肢は stage I-IV までは 3 節で，端節に 3 個の刺毛があり，他の各節には 1 個の刺毛がある。Stage V, VI は 4 節で，端節に 2 個の刺毛，他の各節には 1 個の刺毛があり，stage VI の外肢第 1 節には 2 個の刺毛がある。

Maxillule (**第 1 下顎**) (Fig. 3, 19-21): 内，外葉 (inner, outer lobe) がある，*C. hamatus* 同様 stage III でその存在を僅かに認めうる。Stage IV で内葉には 4 個，外葉には 3 個の刺毛がある。Stage V では内葉に 6 個，外葉に 5 個，stage VI では内葉内縁に 4 個の短い刺毛，やや長い 3 個の刺毛更に 1 個の長い刺毛があり，外葉には 8 個の刺毛がある。

Maxilla (**第 2 下顎**) (Fig. 3, 22): Stage V で僅かに認められる膨出葉にすぎないが stage VI では 8 個の刺毛を認め得る。

Maxilliped (**顎脚**) (Fig. 3, 23): Maxilla 同様 stage V では小さな膨出葉であるが，stage VI では外縁に短い 1 個の刺毛，端部に 2 個の刺毛がある。



Fig. 3. Appendages of the nauplii of *Centropages abdominalis*. × 300.
1-6, The antennules of stage I-VI; 7-12, The antennae of stage I-VI; 13-18, The mandibles of stage I-VI; 19-21, The maxillules of stage IV-VI; 22, The maxilla of stage VI; 23, The maxilliped of stage VI; 24, 25, The first and second legs of stage VI.

First leg (Fig. 3, 24): Stage V で僅かに認め得る。Stage VI では内，外葉が識別され，内葉に 3 個，外葉に 5 個の刺毛がある。

Second leg (Fig. 3, 25): 1st leg と同様で，stage VI で内葉に 2 個，外葉に 3 個の刺毛がある。

Gnathobase: 最初 mandible の底節に棘として存在するが，stage Ⅳ で masticatory process となり，stage Ⅴ，Ⅵ ではその masticatory edge に不完全な歯がみられる。

Caudal armature: Hair と hook がある。Hair は各 stage に 1 個の ventral hair, dorsal hair がある。Hook は stage Ⅲ で腹部と尾部におのおの 1 対が生じ，以後これは変化しない。

終りに臨み，懇篤なる指導と校閲の労をとられた田中博士に心から拝謝する。なお実験に際し多大の便宜を与えられ，有益なる助言をいただいた末広，沢田両氏に厚く敬意を表する。

要　約

1. *Centropages abdominalis* は九州北西岸の 1 月の plankton community に重要な役割をなす。

2. 卵は直径 0.075 mm の薄緑の半透明卵で，産卵数は 120～130 個，平均 122 個である。卵の表面に多数の刺毛があり，Radiolaria の *Haliocladus* に極似している。

3. Nauplius の体形は卵円形で，体色は体後半が赤褐色で他部は無色透明である。赤褐色の眼点は比較的大きく rostrum 基部にある。この nauplius は *Centropages hamatus* の nauplius に極似している。

4. 孵化した larva は 10 日後最後の nauplius stage すなわち stage Ⅵ に成長した。

文　献

1) MORI, T.: The pelagic copepoda from the neighbouring waters of Japan. 1936.
2) OBERG, M.: Die Metamorphose der Plankton-Copepoden der Kieler Bucht. *Wiss. Meeresunters.*, N. S., Abt. Kiel, **9**: 39～103, 1906.
3) JOHNSON, M. W.: The life History of the Copepod *Tortanus discaudatus* (THOMPSON and SCOTT). *Biol. Bull.*, **67**: 182～200, 1934.

ゴマサバの稚・仔魚の分布移動と環境要因の研究—I.
大隅群島周辺における採集魚と海況

田ノ上豊隆・玉 利 達 夫

(1960 年 7 月 1 日受理)

STUDIES ON THE RELATIONS BETWEEN THE DRIFTING DISTRIBUTION OF MACKEREL-LARVAE, *PNEUMATOPHORUS TAPEINOCEPHALUS*, BLEEKER AND THE ENVIRONMENTAL FACTORS—I.
ON THE LARVAE COLLECTED AND THE SEA CONDITIONS AROUND THE ŌSUMI ISLANDS.

Toyotaka TANOUE and Tatsuo TAMARI*

The distribution of the mackerel-larvae, *P. tapeinocephalus* was studied at the three sections, at the surface, 10 m layer and 20 m layer around Ōsumi Islands; The results obtained are as follows:

1) Mackerel-larvae were collected at the three layers (surface, 10 m layer, 20 m layer) in the fishing ground and the adjacent sea from February to May (1958, '59) and the water temperature was varying 16.3～22.4°C.

2) The total length of the larvae was within 4.8～11.8 mm, and the larvae-size frequency showed almost the same figures through each month.

3) As the Table 2 shows, the collection-rate $\left(\frac{\text{collection frequency}}{\text{net drawing frequency}} \times 10^2\right)$ showed highest at the 10 m layer, and the seasonal change was hardly observed.

The collection-rate in the surface showed high rate in the morning, and it became low in the daytime. And the collection-rate in the 20 m layer was somewhat lower than that of 10 m layer, and the seasonal change was small.

4) The vertical stability change of the layer from surface to 10 m is assumed to have some influences upon the distribution of the larvae in the surface layer.

緒 言

ゴマサバと推定される稚・仔魚および環境に関し，矢部[1]は魚釣島周辺の表層で採集された稚・仔魚の形態的特徴について，今井[2),3)]，内田・道津[4]等は 1953 年以降 5 カ年間にわたる対馬暖流開発調査の際，東支那海域で採集されたものの綜合的結果について報告している。

環境面については，今井は海域別の棲息の密度差，潮目の採集効果等，田ノ上[5]は吹送流や海潮流の影響による移動，堀田[6]はカツオの胃内容物中の稚魚と東支那海南部の産卵場との関連性についてのべている。

以上のように，稚・仔魚の採集場の選定条件やその移動については，今までに幾つかの研究が行われているが，フ化後 40 mm 程度に成長して沿海に成群来游するまでの，水平的あるいは垂直的な分布漂流または自主的游泳移動の様子はまだ明かにされていない。

本研究は，表層と同時に中層や深部の各層の採集調査を実施して，前記の諸疑点を究明しようとするものである。

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).

今回は 1958 年1月から本学実習船によつて，大隅海峡を中心として鹿児島湾口に至る海域で，昼間に表層，10m 層，20m 層の同時水平曳きを行なつた結果および海況について報告する。

採集の方法

ゴマサバは鹿児島沿海から大隅群島周辺では，これまでの調査結果[7),8)]で明らかにされているごとく，ほとんど周年にわたつて棲息していることが認められている。成魚群は主として2月から6月までに，巾着網，延縄，一本釣等で漁獲され，その産卵[9),10)]は1月末頃から6月まで続くものと推定されている。したがつて稚・仔魚の採集はこの期間中少くとも毎月1航海以上，本学実習船しろやま (18 トン，60 HP) で実施した。また大隅海峡の流れは黒潮分派の影響を受けて，一般的に北東流が強い関係上，この点を考慮して曳網点は Fig. 1 に示す通り，漁場とその北東海域を選んだ。

曳網に当つては，表層には内田式の直径 1.5m ネットを用い，船首部から右舷側に長さ 1m のビームを出して，先端からロープを出し網口がラダーハウスの横にくるように結着した。10m 層，20m 層には直径 1m，網の長さ 3m (100 経綟子網 2.5m，篩絹 0.5m) のネットを作製使用した。

曳網索には 18mm 経のマニラロープを用い，先端に 21 kg のエイ型デプレッサーを附し，その 1m 上方に網のまた綱を結び，船尾両側に設けてあるローラー上を通して揚，投網し，捲揚げはサイドローラーによつた。

曳網時間は投網終了後，揚網開始までを 20 分間と定めた。



Fig. 1. Showing the fiishing grounds and the stations where mackerel-larvae were collected.

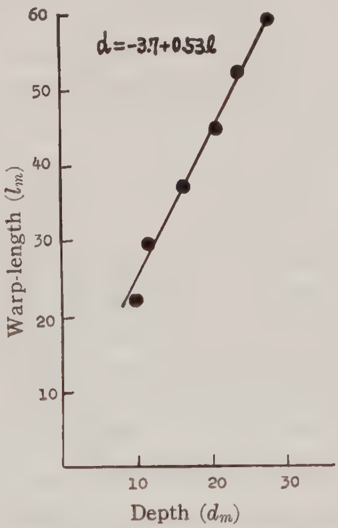


Fig. 2. Relation between the length of warp and the depth where the larval net was set.

曳網水深の決定

曳網深度（ネットの沈下深度）は魚探記録により実験的に求め，実際曳網の場合は実験式から深さを決定した。

すなわち鹿児島湾内において，流速計 (CM-1 B 型) を用いて船速を2ノットに保ち，曳網の長さを種々変えて，それぞれの長さに応ずる稚魚網の深度を魚探で記録し，同時に曳網の伏角を測定した。この結果，各回共伏角は 17～20° で曳網の長短による変化は少く，曳網 (l_m) と曳網深度 (d_m) との間には Fig. 2 のごとく，

$$d = -3.7 + 0.53l$$

の関係がみられた。したがつて漁場で曳網する際は，船速，伏角および上式によつて曳網深度を算出した。しかし漁場等の外洋では風波や流れ，その他の影響で船速に若干の遅速の生ずることは防止できないことであり，網の深度も多少の上下移動は生ずるものと考えねばならない。

採集結果と考察

採集の結果は Table 1 に示すごとく，仔魚は2月から5月までの間に，主として漁場とそれに近い海域で採集された。まれに比較的遠隔の地点で採集されたものもあるが，その位置は漁場からの流去方向と良く合致している。時期的には 2，3 月の採集回数が多いが，曳網回数は月別に一定でないので，この結果から端的に結論づけることは困難である。なお6月には仔魚は全然採集されていないのであるが，この原因についても棲息密度がきわめて疎になつているためか，あるいは海況の影響によるものか不明である。

仔魚の全長は 4.8～11.8 mm の範囲で，各月ともほぼ似た大きさのものだけが採集され，12 mm 以上の大型はみられなかつた。東支那海域の調査結果[2]でも 12 mm 以上の仔魚はほとんど採集されていないこと，カツオの胃の内容物中に 20 mm 程度あるいはそれ以上の大型が多く発見されること等から判断すると，20 mm 前後になると個体の游泳力が増大して逃避するためと推定される。大型稚・仔魚の採集については目下網の構造，採集法等について検討中である。

採集仔魚のフ化後の経過日数については，根拠となるような資料はないが，米国大西洋産の *S. scombrus*[11] や日本沿海産のホンサバ[12] 等の調査結果からみて，発生後旬日を経ていないもので，発生場も比較的近距離の大隅群島周辺と考えられる。

Table 1. Individual number, total length and collected layers of mackerel-larvae, *P. tapeinocephalus* 1958～'59.

Date	Station	Individual number Surface*	10m*	20m*	Total length (mm)	Surface W.T. (°C)
Feb. 2, 1958 0735～0755	30°−55.7′N 130°−57.0′E	0	2	—	8.5, 5.5	17.1
〃 2, 〃 1030～1050	30°−57.0′N 131°−04.5′E	0	1	—	5.5	16.9
Mar. 5, 〃 0830～0850	31°−06.0′N 130°−38.5′E	2	1	—	9.0～11.8	16.9
〃 5, 〃 1020～1040	31°−07.0′N 130°−50.0′E	1	1	—	8.5, 9.5	17.5
Apr. 19, 〃 1200～1220	30°−53.5′N 130°−50.0′E	0	1	—	11.2	18.4
May 16, 〃 0900～0920	31°−02.0′N 130°−39.0′E	0	1	—	10.2	19.1
Feb. 12, 1959 0800～0820	30°−57.0′N 131°−04.5′E	1	1	0	6.7	17.3
〃 12, 〃 0920～0940	30°−51.0′N 131°−08.0′E	1	0	0	6.1	17.2
Mar. 4, 〃 0645～0705	30°−56.0′N 130°−52.0′E	1	2	1	5.3～8.9	18.8
〃 5, 〃 1200～1220	31°−22.0′N 130°−34.5′E	2	1	2	4.9～8.0	16.3
Apr. 9, 〃 1125～1145	31°−17.4′N 130°−46.6′E	0	1	0	5.8	18.3
May 28, 〃 0940～1000	30° 44.5′N 130° 49.5′E	1	1	1	6.0, 8.0	22.2
〃 28, 〃 1730～1750	30°−45.0′N 130°−49.0′E	0	2	0	5.9, 6.0	22.0
〃 30, 〃 1000～1020	30°−53.0′N 130°−45.0′E	0	0	3	5.9～7.9	22.8
〃 30, 〃 1140～1200	30°−53.0′N 130°−45.0′E	0	0	1	4.8	23.6

* Depth of haul.

採集率: 同時曳網を実施して，どの層かで仔魚が採集された場合について，採集率（採集回数/曳網回数×100）を求めると，Table 2 の通りで，表層，10m 層，20m 層ではそれぞれ 47，73，56% となり，10m 層の採集率が最も高い。

時刻別にみると，朝（6～10 時）では表層と 10m 層が 71% で高率となり，20m 層ではやや低い。昼（10～15 時）では 20m 層が 75% で最も高く，10m 層で 57% とかなり好率であるが，表層では 29% に低下している。

Table 2. Daily and seasonal changes of collection-rate of mackerel-larvae in the fishing ground.

Depth of haul / Daily and seasonal changes	Correction-rate Surface	10m	20m
Total	7/15 (47%)	11/15 (73%)	5/9 (56%)
Morning (0600～1000)	5/7 (71%)	5/7 (71%)	2/4 (50%)
Daytime (1000～1500)	2/7 (29%)	4/7 (57%)	3/4 (75%)
Evening (1500～1800)	0/1 —	1/1 (100%)	0/1 —
Feb.～Mar.	6/8 (75%)	6/8 (75%)	2/4 (50%)
Apr.～May	1/7 (14%)	5/7 (71%)	3/5 (60%)

このような時刻的な採集率の変化は，*S. scombrus* 等で知られているごとき，仔魚の垂直移動と関連があるものと推察されるが，今後の調査で夕刻(15～18時)の場合とともに明かにしたい。

採集時期を比較的水温変化の少い 2, 3 月と，水温上昇期となる 4，5 月に分けて，それぞれの採集率をみると，表層では 2，3 月に 75% できわめて高く，4，5 月に 14% と著るしく低下している。10m 層ではともに 70% 以上で採集率は高い。20m 層では時期的差異は少いが 10m 層に較べてやや低い。

したがつて時期的の採集率は 10m 層が最も高く，表層では 2，3 月に 10m 層と変らず高率であるが 4，5 月に悪くなるといえる。

4, 5 月における表層の採集率の低下については，採集の時刻の問題と海況変化(後述)の影響によるものと考えられる。

海況: 表面水温，採集水温・塩分は各曳網点において揚網直後観測した資料を用いた。採集点の表面水温 (Table 1) は 16.3～23.6°C の広範囲にわたり，鹿児島湾内のごとき漁場水温よりも遙かに低い水帯で採集されたものもある。

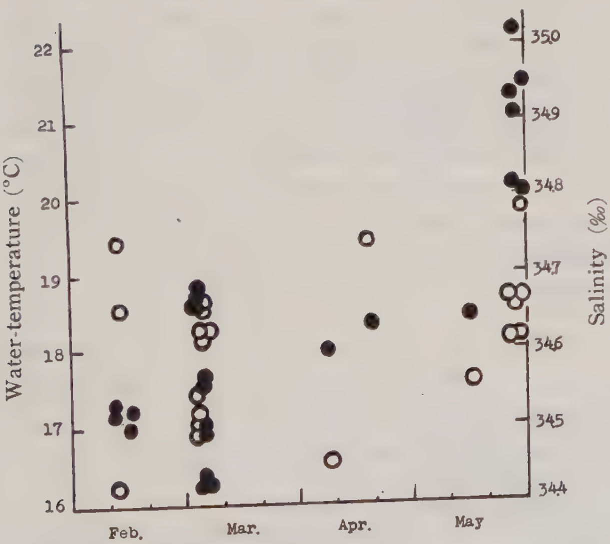


Fig. 3. Monthly variations of water temperature and salinity at the stations where mackerel-larvae were collected.
●: Water temperature, ○: Salinity.

採集水温は Fig. 3 に示すごとく，2, 3 月には 16～18°C で比較的低く，4 月には 18°C 台，5 月には 18～22°C と急に昇温している。このような月別の水温上昇の傾向は，当海区の水温の時期的変化の状態を示すにほかならないが，仔魚の棲息適応の水温範囲を知る上においても参考となる。水温別にみると，17～18°C が全採集回数の半分以上に達しており，仔魚採集上好適水温帯と見做しても差支えないようである。

塩分は 2 月に 34.9‰ 近い高カン水帯も認められたが，一般に 34.4～34.7‰ 程度で著るしい変化はみら

れなかつた。

垂直安定度： 採集点毎の垂直安定度 (10^8E) を求めると Fig. 4 のごとく，0～10m では 2，3 月に全て負の値で，−1300 に達する場合もあり，4 月には正，負両値をとり，5 月になると全て正の値をとるようになり +4200 の高い値もみられる。すなわち 2，3 月の表層附近は対流，混合が起つているかあるいはきわめてそれに近い状態にあり，4 月から 5 月と漁期の進むに伴つて水温が上昇し，安定度は大となり，渦動の発生，対流の発達がともに悪くなることが窺知できる。

10～25m では 0～10m 程顕著でないが，ほぼ同様な傾向が認められる。

25～50m の値は 0 附近に集り，概して中性の状態にあり，時期別の変化は明瞭でない。

以上のべた垂直安定度のうちで，4，5 月に 0～10m の安定度が高くなることは，表層と下層との混合を悪くするもので，表層の採集率が低下する一因となつているものと推察される。

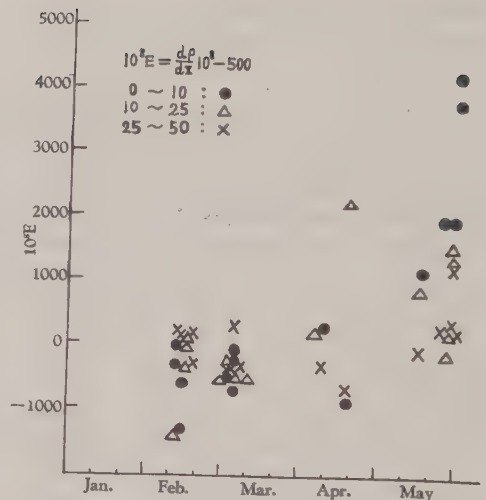


Fig. 4. Seasonal change of vertical stabilities at the stations where mackerel-larvae were collected.

要　　約

ゴマサバの稚・仔魚を大隅群島周辺から鹿児島沿海に至る海域の表層，10m 層，20m 層で採集して次の結果を得た。

1) 稚・仔魚は 2～5 月に漁場周辺およびその北東海区で採集された。

2) 採集魚の全長は 4.8～11.2 mm の範囲で，月別の体長差はほとんど認められない。

3) 採集水温は 16.3～22.4°C の範囲で，17～18°C で最も多く採集された。

4) 採集率は 10m 層が最も高い。(Table 2)．表層の採集率は朝の間，10m 層と同様に高いが，昼には低下する。時期的には 2，3 月に高く，4，5 月に低下する傾向が認められる。

20 m 層の採集率は 10 m 層に較べてやや低いが，時期的，あるいは時刻別の変動は少い。

5) 曳網位置の表層の垂直安定度の変化は表層の採集率に関係があるように思われるがなお疑問がある。

終りに，採集稚魚を査定していただいた今井貞彦博士，資料の整理に御尽力下さつた山ノ内由美子氏，採集に協力された高橋琴一船長外船員諸氏に深く感謝する。

文　　献

1) 矢部　博： 南海区水研業績集，第 1 号 (1953).
2) 今井貞彦： 対馬暖流開発調査資料 1～4，鹿大水産学部 (1954～1958).
3) ————： 対馬暖流開発調査報告書第 2 輯，水産庁，(1958).
4) 内田恵太郎・道津喜衛： 対馬暖流開発調査報告書第 2 輯，水産庁，(1958).
5) 田ノ上豊隆： 対馬暖流開発調査第 5 回発表論文 7～21，水産庁，(1957).
6) 堀田秀之： 東北水研研究報告第 9 号，(1957).
7) 金森政治・盛田友弌・田ノ上豊隆： 対馬暖流第 5 回論文集 1～6，水産庁 (1957).
8) 田ノ上豊隆・江波澄雄： 対馬暖流研究報告第 1 号，水産庁，(1954).
9) 田ノ上豊隆： 鹿大水産学部紀要第 **5** 巻，42 (1956).
10) 田ノ上豊隆・倉田洋二・徳留陽一郎： 本誌，**26**，277 (1959).
11) Sette, O. E.: Biology of the Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*) of North America. Part 1, Bull. Fish and Wildlife Service, U. S. Dept. Interior, 50, (1943).
12) 笠原　昊・伊東英正： サバの生態，水産庁調査研究部，(1953).

東支那海におけるシロカジキの漁場構成に関する研究—I.

環境の季節変化に伴なう漁場構成について

盛　田　友　弌

(1960 年 7 月 1 日受理)

FISHING-GROUND CONSTITUTIONAL STUDIES ON THE WHITE-MARLIN, MARLINA MARLINA *JORDAN & HILL*, OVER THE EAST CHINA SEA—I. ON THE FISHING-GROUND CONSTITUTION OCCURRING WITH THE SEASONAL CHANGE OF THE ENVIRONMENT

Tomokazu MORITA*

There are two chief environmental factors, biological and non-biological, in the fishing-ground constitution of white marlin over the East China Sea; the former consists of the distribution of mackerel and horse-mackerel and the latter consists of the effect variations of Kuroshio-warm-current and the Continent-coastal cold water mass.

And the white marlin migrates over to the East China Sea not in order to spawn but in order to feed mackerel and horse-mackerel etc. And as for its fishing ground, and in winter it covers the southern Kuroshio sea front which is adjoined to the mackerel fishing ground; and in spring and summer it removes, in accordance with the rise of the water-temperature, towards the central and northern sea front, which is overlapped with the mackerel fishing ground; and in autumn it removes, in accordance with the lowering of the water temperature, and along the mackerel fishing ground, towards southern sea front.

And it is supposed that the constitution of the white marlin fishing ground is, so long as the white marlin may adapt itself to the sea conditions, apt to be subjected to the biological factors such as the distributions of mackerel and horse mackerel etc. rather than the sea conditions.

ま え が き

東支那海（東海）において，シロカジキはマグロ類，カジキ類中最も多く漁獲されており[1]，マグロ延縄漁業の重要な対象魚種となつている。ゆえに，その漁場構成について解析することはカジキ漁場の開拓にきわめて意義のあることと考えるのである。

本篇は，東海におけるシロカジキ，サバの漁況報告，海況旬報，生殖腺重量及び胃内容物調査などの資料により環境の季節的な消長に伴なう漁場の出現状況について考究した。

漁場の季節移動

東海のシロカジキ漁場を南部，中部，北部に区分し，各部における操業回数の比較的多い海域を更に区画してそれぞれ A, B, C とした。しかして，1953～1956 年間を李ライン問題の影響のなかつた前の 2 年とその影響によりC漁場に出漁不能となつた後の 2 年とに区分し，それぞれの漁獲尾数，漁況別操業回数などを月毎に表示した (Table 1)。

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).

Table 1. Monthly fishing condition of white marlin at each fishing ground.

Year	Ground	Item	Hooked-rate	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
1953 ~ 1954	A	Catch		862	492	103	166	62			1	2	89	242	752
		Nos. of fishing operation	1.0>	67 (47.5)	126 (76.8)	60 (100)	88 (91.4)	32 (97.0)			1	1	27 (84.4)	28 (62.2)	54 (50.0)
			1.0 ~2.0	45 (28.9)	28 (17.1)		5 (8.6)	1					5 (15.6)	13 (28.9)	25 (23.1)
			2.0<	10 (23.6)	10 (6.1)									4 (8.9)	29 (26.9)
			Total	140	164	60	93	33			1	1	32	45	108
	B	Catch						18	398	126	34	421	2544	1751	143
		Nos. of fishing operation	1.0>					13 (100)	64 (59.3)	30 (73.2)	6 (60.0)	34 (43.0)	221 (47.1)	309 (64.5)	56 (86.2)
			1.0 ~2.0						31 (28.7)	7 (17.0)	2	25 (26.7)	144 (30.7)	123 (25.7)	8 (12.3)
			2.0<						13 (12.0)	4 (9.8)	2	20 (25.3)	104 (22.2)	47 (9.8)	1
			Total					13	108	41	10	79	469	479	65
	C	Catch									534	1045			
		Nos. of fishing operation	1.0>								52 (45.2)	104 (47.9)			
			1.0 ~2.0								37 (32.2)	82 (37.8)			
			2.0<								26 (22.6)	31 (14.3)			
			Total								115	217			
1955 ~ 1956	A	Catch		41	52	9	5	12		1	2		2		11
		Nos. of fishing oper tion	1.0>	15 (83.3)	11 (64.7)	3	2	6 (85.7)		1	1		2		4 (80.0)
			1.0 ~2.0	3	6 (65.3)		1	1							1
			2.0<												
			Total	18	17	3	3	7		1	1		2		5
	B	Catch					1	2	889	240	124	173	1062	1090	58
		Nos. of fishing operation	1.0>				1	2	108 (58.4)	12 (36.4)	10 (50.0)	19 (51.4)	70 (43.8)	127 (59.1)	32 (94.1)
			1.0 ~2.0						48 (25.9)	8 (24.2)	6 (30.0)	10 (27.0)	53 (33.1)	54 (25.1)	2
			2.0<						29 (15.7)	13 (39.4)	4 (20.0)	8 (21.6)	37 (23.1)	34 (15.8)	
			Total				1	2	185	33	20	37	160	215	34
	C	Catch								1				9	10
		Nos. of fishing operation	1.0>							1				7 (100)	7 (100)
			1.0 ~2.0												
			2.0<												
			Total							1				7	7

( ) : Percentage

Fishing ground, A: 25~27°N, 122~125°E, B: 28~30°N, 124~127°E, C: 32~34°N, 126~129°E.

この表によれば，東海のシロカジキ漁は，冬季には南部のA漁場が，春季には中部のB漁場が活況を呈し，夏季にはB漁場の操業回数が減つて，北部のC漁場が好況となる。その後シロカジキの好漁場は秋季から冬季に及び南下して，再び中部，南部の漁場に移行している。なお，1955年以降におけるC漁場の不振は，前述せるように李ライン問題の影響であつて，環境現象によるものでないと考えるが妥当であろう。

夏季のB漁場は，その操業回数の減少にかかわらず好漁の出現頻度の割合が春秋の場合と余り相違していないようである。このことは，東海に来遊するシロカジキ群のすべてがC漁場まで北上するのでなく，その内のある魚群はB漁場に残存して漁場を形成するのであろう。ただ，C漁場は，その性格上根拠地から近くにあり，その範囲が比較的狭く，漁場探索が容易であるので，漁船の出漁も概して安易となる。したがつて，この季の東海における漁獲努力は習慣的にC漁場に変在して増加し，B漁場の操業回数は必然的に減少するようになるものと思考する。すなわち，夏季の東海中央部におけるシロカジキの漁場構成については，更にその性格を究明し，その開拓を検討する余地が残されていると考える。

初春季は各年とも全般的に漁況不振となつている。この頃後記のように魚群の更新がありそうである。

環境の季節変動と漁場

東海の海況は Fig. 1-A に示すように黒潮暖水と大陸沿岸性冷水塊との相対的な季節的消長に支配されるものと考えられている[2),3)]。これらによる海況変動はシロカジキ，サバ漁場の出現に非常に影響しているようである。そこで，1953～1956年間における月別平均水温による等温線及び同年間に出現したシロカジキ漁場とサバ漁場とを同じ月毎に区別して図示た。また，シロカジキの胃内容物の調査結果を整理して表示した。この月別平均水温を海況の季節変動の指標となし，これに伴なう漁場移動とシロカジキの食性に基づくサバ漁場の関連とについて検討した。

1. 海況の季節変動と漁場

冬季の漁場: Fig. 1-A において，冬季 1～4 月間には，15°C と 20°C の等温線の位置が時間的にほとんど変らず，この間にあつて顕著な潮境を伴なう陸棚前線が形成されているようである。なお，北部海域では 2～3 月と更に降温しているにかかわらず，南部黒潮流域では1月を最低水温とし，その後はすでに逐次昇温しており，暖水帯の北東拡張も観察される。しかして，シロカジキ漁場は1月頃主として魚釣島の南側附近に出現しているが，その後4月頃までは陸棚前線内に潜入することができず，黒潮暖水の拡張に伴ない東北方に拡散し，4月頃には 27～28°N 附近に達している。

春季の漁場: Fig. 1-B において，春季 5～7 月間には，東海の海況変動の激しいことが想像される。平均水温の上昇は1カ月約 5°C 位であり，等温線の北上移動は1カ月ほぼ 100～150 浬に及んでおり，また，この頃の等温線は，その中央部附近で南東への湾曲張出が著しくなつている。これは東海中央部の黄海系冷水塊の残存によるものであり，その冷水塊の衰退が遅れがちとなり，一方その両側の黒潮系の暖水帯が比較的優勢になつたものであると考える。すなわち，春季における東海の海況は，冬季の前線帯が衰退し暖水勢力が増強され，特に魚釣島西方の中間暖水[2)] と対馬暖流とが優勢になつて北流しているのであろう。

しかして，この季の東海におけるシロカジキは，その漁場の出現状況よりみて，中間暖水帯に沿い大陸棚内部に北上する魚群と大陸棚縁辺に沿つて対馬暖流域に回遊する魚群とがあるように観察される。

夏季の漁場: Fig. 1-C において，夏季 8～9 月間には，春季以来の水温上昇はほぼ止まり，年間を通じ最高の水温状態であり， 全海域が 25～29°C の水温範囲となつている。 また， この季は全般的に概して等温な海況となつており，水温による潮境現象はきわめて不明瞭である。すなわち，夏季における海況の時間的，空間的変動はきわめて少ないようである。

しかして，シロカジキの漁場はこの季になつて北限の済州島近海に出現し，その漁況は一時的にきわめて好況を呈している。なお，この済州島近海のシロカジキ漁場はこのように夏の最高水温季にのみ形成されているのであつて，その漁場構成は，海況の季節的な変動に支配されることがきわめて多いものと考えられる。また，この季における東海中央部のシロカジキ漁場は春季の場合より幾分北に偏しているが，余り大きな偏

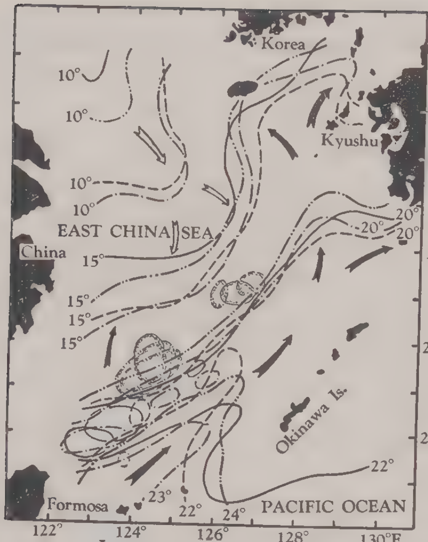


Fig. 1-A. Jaunary～April.

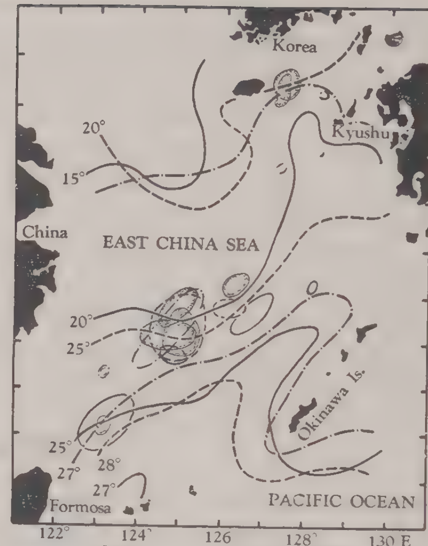


Fig 1-B. May～July

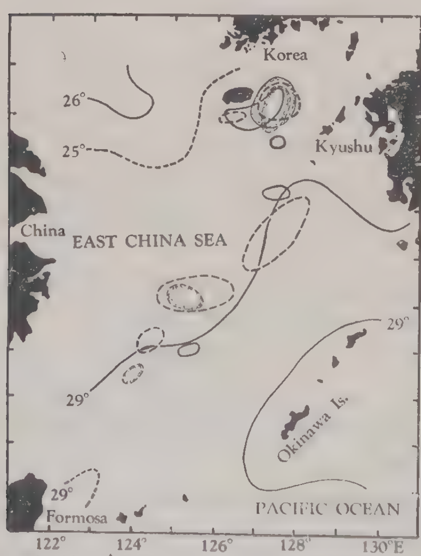


Fig. 1-C. August～September .



Fig. 1-D. October～December

Fig. 1. Maps showing the mean surface water-temperature distribution and the white marlin and the mackerel fishing ground. Its were considered according to the data for research of East China Sea in the same four mouths during the four years from 1953 to 1956.

⬭ : White marlin fishing ground, ⬯ : Mackerel fishing ground.

よりはみられないようである。

秋季の漁場: Fig. 1-D において，秋季 9~12 月間には，春季の場合とは逆に水温の降下と等温線の南下移動とが観察される。ただ，この季の等温線は，その中央部における南東への弯曲が春季の場合のように顕著でなく，ほぼ斜行している。すなわち，このような海況は，黄海系冷水魂の局部的な突出が余り明瞭でなく，大陸の気象的要因に基づく全般的な降温現象によるものであると考えられる。

このため，秋季のカジキ漁場は済州島方面からの南下群を混じえ東海の中央部附近に出現し，同海域に斜行する等温線に沿つて南西に拡散する。その後，時季の経過にしたがつて北部海域の水温が次第に降下すると，シロカジキ漁場は逐次南下する傾向を示している。

2. サバ漁場との関連

シロカジキの来遊生態: 占藤等[4] は，東海におけるシロカジキの体長組成及び肥満度の季節的変化により，その魚群構造は毎年 4~5 月を中心とした期間に更新され，その魚群が逸散添加され，またそれは索餌群であるとしている。しかして，本篇では東海の南北両端漁場である魚釣島，済州島両海域の主なカジキ類の胃内容物とシロカジキの生殖線重量とによりその来遊生態を考えた。

Table 2 はカジキ類の胃内容物の有無と胃内の食餌組成を示したものである。これによれば，魚釣島，済州島両海域のカジキ類は，その大多数が胃内容物を保有しており，その胃内容物の大部分がサバとアジである[5]。また，シロカジキはクロカジキなどに比して特にサバ，アジを多く選択し，なお，アジよりもサバを沢山捕食している。すなわち，東海のカジキ類，特にシロカジキは主にサバ，アジを対象として摂餌行動をなしているものと思考される。ゆえに，東海におけるシロカジキの漁場構成は，サバ，アジ漁場の出現状況と密接な関連を持つものであると考える。

Table 2. Existence or no-existence and the feeding species composition of the marlin stomach contents.

Fishing ground	Samples		Stomach contents								Remark
					Species composition						
	Species	Nos.	Existence	No existence	Mackerel	Horse mackerel	Squid	Skipjack	Other fish	Total	
Uoturi-jima Sea	White marlin*	26	20 (76.9)	6 (23.1)	22 (53.7)	16 (38.1)	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (2.4)	41	October, 1952
	Block marlin**	35	30 (85.6)	5 (14.4)	18 (33.4)	17 (30.7)	3 (5.3)	12 (21.6)	5 (9.0)	55	
	Sail-fish***	5	3	2	2		2			4	
Saisiyutō Sea	White marlin	41	27 (65.9)	14 (34.1)	27 (46.5)	16 (27.5)	3 (5.2)	5 (8.6)	7 (12.2)	58	September and October, 1952
	Black marlin	35	27 (77.1)	8 (22.9)	19 (31.2)	19 (31.2)	3 (4.9)	16 (26.2)	4 (6.5)	61	
	Striped marlin****	9	8	1	8	1	3		1	13	

* *Marlina marlina* JORDAN & HILL.
** *Eumakaira nigra* NAKAMURA.
*** *Istiophorus orientolis* TEMMINCK & SCHLEGL.
**** *Kajikia mitsukurii* JORDAN & SNYDER.
( ): Percentage

Table 3 はシロカジキの生殖腺重量について示したものである。これによれば，シロカジキの生殖腺重量は，総体的に 200gr. 以下の小さいものがきわめて多くなつている。すなわち，東海では一般にシロカジキの産卵生態は考えられないであろう。しかし，冬季の魚釣島海域の大型群には生殖腺の比較的大きいものがわずかに混在している。これらは東海において索餌回游を終え，産卵のために南下逸散する過程にあるもの

Table 3. Appearance frequency by the body length and gonad weight class of white marlin.

Class of gonad weight in gr.	Fishing ground								Total
	Uoturijima Sea				Saisiyutō Sea				
	Body length (cm)*				Body length (cm)**				
	150～200		200～250		150～200		200～250		
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
0～100	6		2		13	2	2		25
100～200	1		2		9	2	1		15
200～300	1		5	1	1	1			9
300～400	1		1	1	1		2		6
400～500		1	3				4		8
500～600			2	1					3
600～700			3			1			4
700～800			3				1		4
800～							1		1
Total	9	1	21	3	24	6	11		75

* Survey in Feburary 27～March 13, 1950.
** Survey in September 22～October 31, 1952.

であろう。

シロカジキ漁場とサバ漁場[2),6),7)]との関連性: 冬季における東海のサバ漁場は，大陸棚の縁辺内側の27～28°N と 29°N 附近とに出現しており，カジキ漁場は 20°C の等温線を境にして南部のサバ漁場に隣接して形成されている (Fig. 1-A)。すなわち，シロカジキはこの頃サバ類を求めて魚釣島南側海域に来遊するが，その北部海域のサバ漁場がまだ時季的に低温であるので，その漁場内に潜入して索餌できないのであろう。しかし，このようにシロカジキ漁場とサバ漁場とが互に隣接しているのはシロカジキの索餌生態を意義づけているものと考える。

春季になると，前述のように中間暖水帯と対馬暖流とが発達し，これに伴ないサバ漁場はそれぞれその暖水域に沿つて東海中央部及び済州島近海へ逐次移動しているようである。この季のシロカジキ漁場は南部，中部のサバ漁場と同海域に形成されている。しかし，北部海域ではこの頃はまだサバ漁場のみであり，シロカジキは出現していないのである。これは海況的制約によるものであると考える (Fig. 1-B)。

夏季に東海の全海域が季節的に最も高温な水温状態を示すようになると，その北部海域も中部海域もサバ漁場の出現しているところにシロカジキ漁場が形成されている (Fig. 1-C)。

秋季には東海全域が逐次降温し，春季の場合のように北部海域はサバ漁場のみとなり，中部海域は，サバ漁場とシロカジキ漁場とが出現している (Fig. 1-D)。

以上，東海におけるシロカジキ漁場とサバ漁場とは，その海況の季節的な変動に伴ない冬季には南部海域で互に隣接し，夏季には中部，北部の海域で互に重なり，春・秋季には南部，中部の海域で互に重なるが，北部海域ではサバ漁場のみとなる。すなわち，東海に来遊するシロカジキはその環境に順応できる範囲内で主としてサバ，アジを求めながら遊泳し，そこにその漁場が構成されるようになるものと考える。

結　び

東海におけるシロカジキの漁場構成に関連する環境現象には，生物学的なものと非生物学的なものとが考えられる。前者はサバ，アジの分布状況であり，後者は黒潮系暖水及び大陸沿岸性冷水魂の消長である。

しかして，東海のシロカジキは，その摂餌及び生殖腺の状態からみて一応サバ，アジ等を対象として来遊する索餌群であり，産卵群であるとは考えられない。また，冬季における東海のシロカジキは南部黒潮流域の昇温に伴なつて来遊するが，顕著な陸棚前線を突破して，その内側の低温なサバ漁場内に潜入できなく，

その南側附近で摂餌目的を果しているようであり，このため漁場は互に隣接して東北に拡散する傾向にある。春季から秋季の間にあつては，黒潮系暖水の消長 は季節的に顕著であるが，冬季よりは一般に優勢となり，大陸沿岸性冷水塊は概して衰退しているのでシロカジキは海況的に大陸棚の中央部や北部の海域へ来遊可能となり，その主漁場は東海中央部及び北部海域においてサバ漁場に互に重なつて形成されるのである。しかし，北部の済州島近海では，サバの出現が春秋に及んでいるのに，シロカジキ漁場は夏季のみ現われている。すなわち，この海域は東海の最高水温季にのみシロカジキの北限漁場となるのであり，また，シロカジキの回遊はただサバの分布のみでなく，海況の季節的変動にも支配されているものと考えられる。

以上，東海のシロカジキは春夏の昇温季にサバ，アジ等を摂餌の対象として来遊しており，その漁場は多くの場合サバ漁場と隣接し，または互に重なつて構成されている。その漁場の南北移動は海況の季節的な変動に伴なつて行われているようである。しかして，このような漁場構成は，シロカジキが東海の海況条件に順応できる範囲内において実現するものであつて，その海況条件内にあつてはむしろその食餌に関連するサバ，アジなどの生物環境に支配される場合が多いものと考えられる。

終りに，この研究のために貴重な調査資料の提供と御教示を賜つた南海区水産研究所ならびに鹿児島県水産試験場の関係各位に対し深甚なる敬意と謝意を表するものである。

文　献

1) 鹿児島水試: カジキ，マグロ延縄漁場図，(1957).
2) 辻田・近藤: 東支那海のサバの生態と漁場の海洋学的研究 (1)，15～31 (1958).
3) 水 産 庁: 対馬暖流開発調査報告 I 輯，55～65 (198).
4) 古藤・古川・小玉: 南水研報告，**11**，112～128 (1959).
5) 盛田友弌: 鹿大水部学部紀要 3，1，48～50 (1953).
6) 鹿児島水試: 東支部海さば跳釣漁況 1，(1958).
7) ————: ———— 2，(1959).

毒物に対する魚の反応に関する研究—II. 酸に対する魚類の反応*

石　尾　真　弥

(1960 年 7 月 1 日受理)

THE REACTIONS OF FISHES TO TOXIC SUBSTANCES—II. THE REACTIONS OF FISHES TO ACIDS.

Shinya Ishio**

In previous paper (1), the present author was able to introduce only about the structure of a new gradient tank and the principle of formation of toxic gradient in it.

This paper deals with the method of avoidance tests of fishes applying the new tank, in combination with the reactions of Gin-buna, *Carassius auratus* (L.) and bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* to acid gradients resulted from adding hydrochloric acid to soft water and hard water. Some data of those tests proved the fact that against pH gradient, Gin-buna were able to approarch fairly acid water with pH as low as 2.8 when the concentration of carbonic acid was lower than 18 p.p.m., whereas bluegill sunfish could approarch only pH 5.8 where the concentration of carbonic acid was 240 p.p.m. Although the pH 2.8 for Gin-buna and the 240 p.p.m. of carbonic acid for bluegill sunfish are presumed to be quickly fatal (4), (9), it is safely to say that those fishes can avoid of fatal concentrations of either hydrogen ion or carbonic acid with a high frequency more than 70 per cent of total avoidance.

前報[1] では，新考案の濃度傾斜槽の構造と濃度傾斜の生成機構を述べることにとどまった。この報告では嫌忌試験の方法と，軟水に塩酸を加えて生成された酸の濃度傾斜に対するギンブナの反応および硬水に塩酸を加えて生成された酸の濃度傾斜に対する bluegill sunfish の反応について述べる。

実験の結果，ギンブナはしばしば pH 2.8 まで到達し得ること，bluegill sunfish は 5.8 より低い pH の水に泳ぎ込まないことが判明した。両種の魚はともに酸に強い魚として知られるが[2]，このような行動の差異は，水中の炭酸濃度に起因することを明かにした。また嫌忌濃度は必ずしも致死濃度より低くないが，70% 以上の頻度をもって両種の魚は致死的な水素イオン濃度あるいは炭酸濃度から回避し得る能力のあることを証明した。

嫌忌反応の試験法

魚を傾斜槽に放すと，種類によって，群を作り水槽内を往復するもの，一定位置にとどまって殆んど動きを示さないものなど様々である。しかし塩酸のような毒物を，水槽の左端から注入し始めると，魚の分布は次第に右方に片寄って，遂には右端に追いつめられてしまう。塩酸の注入量，あるいは濃度を適当に加減すると，魚は塩酸のある濃度の点に達して引返すようになる。したがって塩酸に対する嫌忌濃度を求める方法として，魚が引返す位置の塩酸の濃度を求めれば良いはずである。しかしながら，魚には個体差があるから全部の魚がその濃度の地点に到達するとは限らない。大部分の魚は遥か低濃度から退却する。ある一定時間内に魚が到達し得る最高濃度の位置，すなわち分布の上限を記録することは容易である。しかし，より低濃

* 本研究の大要は昭和 35 年 4 月，東京における日本水産学会にて発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

度から退却する大部分の魚の位置を記録することは困難である。このために，一定時間毎に水槽内の全供試魚の平均位置を求め，その位置の塩酸濃度から，平均嫌忌濃度を推定した。

全供試魚の平均位置を求めるために，水槽内に等間隔の7箇の区画を仮定した。すなわち，水槽の中央部をOの区画とし，濃度の高くなる方向に向つて +1，+2，および +3，低くなる方向に −1，−2，および −3 の区画を設けた。また水槽の中央を起点として，高濃度側に 0 から +100 までの等間隔の 10 目盛りをつけた。低濃度側には同じく 0 から −100 までの目盛りをつけた。

この水槽に通常 11 尾の魚を放し，充分水槽に馴れた後，2 分 30 秒毎に各区画に分布する魚の尾数を記録し，その時間の間に魚が到達し得る毒物の最高濃度の位置を，水槽につけた 0 から ±100 までの目盛りの読みとりによつて記録した。

魚が水槽内の毒物の濃度を極端に嫌悪すると，全供試魚は −3 の区画に逃げ込み，そこには魚が逃げ得る余地は少しも残されていないので，この場合の魚の平均位置は −100 の値をとるものと規定した。また水槽全体に平均に魚が分散するとき，あるいは水槽中央に集まるときには，その平均位置は 0 の値をとるようにつぎの計算式で求めた。

$$\text{魚の平均位置} = \frac{100}{N \times 3}\left\{3 \times (n_3 - n_{-3}) + 2 \times (n_2 - n_{-2}) + (n_1 - n_{-1})\right\}$$

ここに N は全供試魚の数である。n_3，n_{-3} 等はある時間に各区画に存在した魚の数を示す。n の右裾の数字は区画の番号である。

このようにして時間の経過とともに魚の動きを記録しつつ，ある時間の経過の後に毒物の注入を開始した。注入後適当の時間々隔で，水槽の7乃至8箇所から一斉に採水し，毒物の濃度を定量した。定量法は使用毒物の種類によつて異るが，定量法そのものが困難な毒物，あるいは水槽中の毒物濃度が極端に低くなり，直接の定量が困難な場合には，魚の行動に影響を与えない程度に，供試毒物に一定割合に塩化ナトリウム，あるいは Alizarin sodium sulfonate のような色素を混じ，塩素イオンの定量，あるいは分光々度計による色素の定量によつて間接的に毒物濃度を求めた。塩酸の場合には pH 値の測定とともに，無機酸度および全酸度の差を求めて炭酸濃度を測定した。人手の足りない時には，pH 値と塩酸に混じた色素の定量値から炭酸濃度を求めた。このようにして各時間の毒物の濃度傾斜が得られるので，それらの測定時間に，ある毒物濃度は水槽のどの位置に存在するか判明する。したがつてこれらの濃度の位置を Fig. 1，3 および 4 に示したような魚の反応図の，該当する時間の上に印し，各時間にわたつて等濃度の点を結んでいけば，これらの図に見られるような等濃度線が画ける。したがつて時間の経過とともに起る濃度傾斜の変化を知ることができる。

このような方法によつて，ギンブナ *Carassius auratus* (L.) と bluegill sunfish の塩酸に対する反応を試験した。

塩酸に対するギンブナの反応

全長 13〜14cm のギンブナ 11 尾を水槽に放し，餌を与えることなく 2 日間飼い馴らした。試験開始前，水槽左端，+100 の位置で水温 14.0°C, pH 7.58，水槽右端，−100 の位置で 14.4°C, pH 7.63 を示した。pH の測定は硝子電極法によつた。この清水は遊離塩素，その他の疑わしい毒物を含まない。溶存酸素は充分量である。

40 分間の blank test の期間，ギンブナは群を作つて頻繁に水槽内を往復したので，魚の平均位置は Fig. 1 に見られるように大きな振幅をもつた短い波長の波形で示された。殆んど毎回先頭の魚は +100 の位置まで達するので，分布の上限は +100 の位置に示されている。90 分に，0.025 N の塩酸溶液を毎分 26.5 ml. の速度で +100 の位置から注入し始めた。清水の供給量は毎分 3.3 *l* にした。塩酸の流れが水槽内で定常状態になつた後，180 分から 300 分にわたつて魚の分布の上限 (Fig. 1. 細線) と，分布の平均位置 (Fig. 1. 太線) を記録した。分布の上限は，ほぼ pH 6.5 から 2.9 の間に示されている。分布の平均位

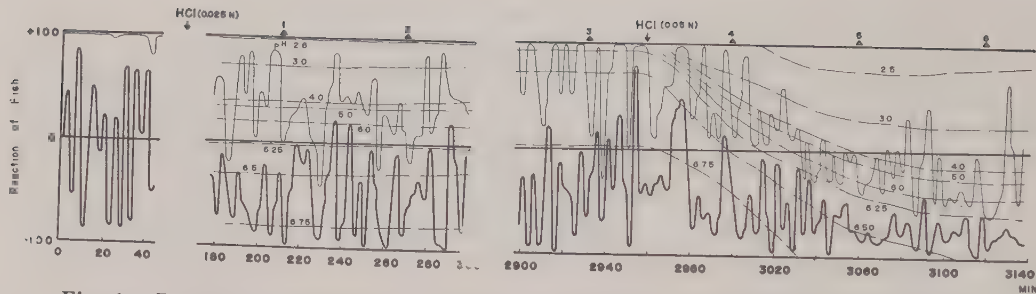


Fig. 1. Reactions of Gin-buna, *Carassius auratus* (L). to acid gradient resulted from adding hydrochloric acid to soft water.
Bold line shows mean distributions of fish. Thin line represents upper limits of the distributions. Chain lines are iso-pH lines. Small triangles put down on a top line mean the time when sampling were done for determination of pH and carbonic acid.

置は大体 6.25 以上の水中に見られた。塩酸の注入はその儘続けられたが，約 48 時間までには注入量が次第に低下し，2930 分には水槽の左端で pH 6.22，右端で 6.90 を示した。2960 分に 0.05N の塩酸溶液の注入を開始した。pH の傾斜は時間の経過とともに険しさを増し，ギンブナは後退し始めた。しかしながら魚の分布の上限は，180 分から 300 分の間に見られたものと大差なく，pH 6.5 から 2.7 の間に観察された。分布の平均位置は pH 6.25 以上の水中に見られた。

pH 値の測定とともに，炭酸濃度を測定し，その濃度傾斜を Fig. 2 に示した。この実験期間を通して，炭酸濃度は $CaCO_3$ として 30 p.p.m. を越えなかつた。後述の bluegill sunfish の試験結果と比較するために，炭酸そのものの濃度に換算すると，その濃度は 18 p.p.m. 以下である。炭酸濃度の最高の位置は pH 4.0 と 5.0 の間にあり，その両側で低い pH 値になつている。これは pH 4.5 以下の位置では，塩酸が重炭酸塩をことごとく分解し，生成した炭酸が底部からの気泡送入によつて気化し，気化量は気泡との接触時間の長さに比例するからである。pH 4.5 以上の位置で再び低くなるのは底部から供給される清水の稀釈と気化の両作用による。

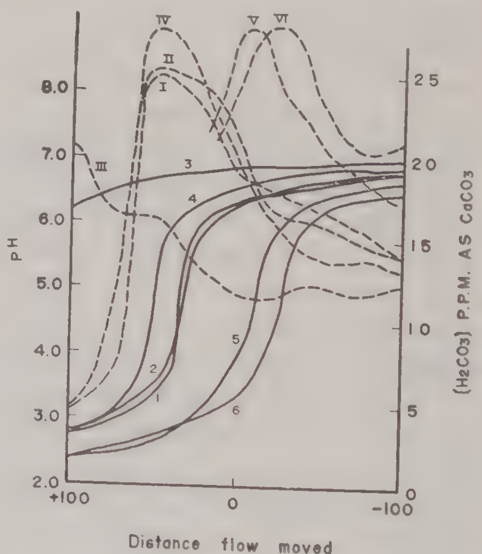


Fig. 2. Gradients of pH and concentration of carbonic acid when hydrochloric acid was added to soft water in the gradient tank. Solid lines are for pH, and dashed lines for carbonic acid. Figures show the order of sampling seen Fig. 1.

この実験は 72 時間継続された。この時間に pH の傾斜は +100 の位置で 5.56，−100 の位置で 6.70 に弱まつていたが，試験期間を通じて，ギンブナに何等の異常も見られなかつた。

塩酸に対する bluegill sunfish の反応

この実験は，著者が Purdue 大学* の衛生工学の研究室で行つたものである。体長 12〜14 cm の bluegill sunfish 13 尾を同じ構造の水槽に放し，10 時間水槽に馴らした。100 分間の blank test の期間を通して，

* (West Laffayette, Indiana, U. S. A.)

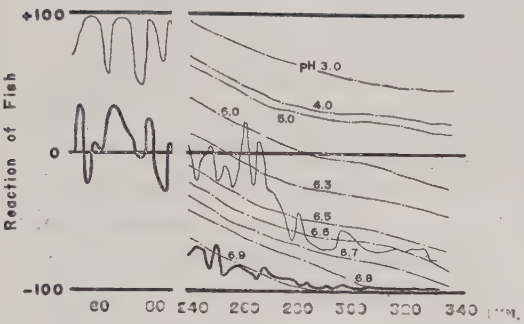


Fig. 3. Reactions of bluegill sunfish to acid gradient resulted from adding hydrochloric acid to hard water.
Bold line shows mean distributions of fish. Thin line represents upper limits of the distributions. Chain lines are iso-pH lines.

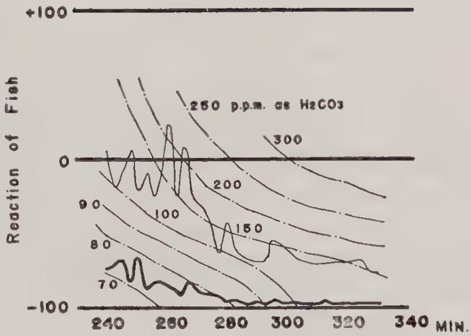


Fig. 4. Reactions of bluegill sunfish to carbonic acid resulted from adding hydrochloric acid to hard water.
Bold line and thin line are the same with those illustrated in Fig. 3. Chain lines are iso-concentration lines of carbonic acid.

魚は水槽全体にほぼ均一に分布した。ギンブナと異なり群を作らなかつたので，平均位置は小さな振幅で比較的波長の長い波形で示された。110 分に 16 p.p.m. の濃度を持つた methyl orange 溶液を +100 の位置から注入した。幾分の変動が魚の分布の上に見られたが，大勢には殆んど影響が及ばなかつた。225 分に同濃度に methyl orange を含む 0.1 N 塩酸溶液を毎分 68 ml の速度で注入し始めた。清水の注入量は毎分 2l に保つた。Purdue 水道水には，冬期のため遊離塩素の注入が行われていなかつた。Total hardness は 362 p.p.m. といわれていたが，EDTA 法による実測では丁度 500 p.p.m. を示した。非常に硬い水である。注入塩酸の大部分は水槽中央に進む前に，水中の重炭酸塩によつて殆んど中和され，結果として 300 p.p.m. の濃度を越える炭酸が出現した。この炭酸は稀釈と気化によつて濃度を低下しつつ水槽右端 −100 の位置に進んだ。

この濃度傾斜の中で bluegill sunfish の示す行動は，Fig. 3 および 4 に示した。pH との関係を見れば bluegill sunfish は pH 6.0 を越えたのが 1 度であり，多くの場合，6.3 乃至 6.7 の pH を持つ水に出遭うと退却していることが判る。魚の平均位置は，pH 6.9 以上の水中に見られた。280 分から後は 6.8 の水中に分布を強制された。炭酸濃度との関係を見れば，200 p.p.m. の炭酸濃度を越えて 2 度泳ぎ込んでいるのが判る。多くの場合には 100 乃至 160 p.p.m. の範囲から退却している。魚の平均位置は 80 p.p.m. 以下の炭酸濃度の中に見られた。

考　　察

両魚種の酸に対する嫌忌行動の相違を明らかにするために，種々の pH 範囲に入つて逃げ出す頻度を百分率に換算して Table 1 に示した。ギンブナの 1 回の回避は，1.45%，bluegill sunfish のそれは 2.7% に相当する。この結果からギンブナは pH 2.8 より低い pH 値には泳ぎ込まないことが明かである。bluegill sunfish の回避頻度を示すのに，Table 1 には 5.0−6.0 の pH 範囲と書いたが，5.8 より低い pH 値の水に

Table 1. Frequency of entry into two different acid gradients observed upon Gin-buna, *Carassius auratus* (L.) and bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*.

pH range	Gin-buna	Bluegill sunfish
lower than 2.8	0	0
2.8 to 3.0	14.5	0
3.0 to 4.0	14.5	0
4.0 to 5.0	14.5	0
5.0 to 6.0	14.5	2.7
6.0 to 6.25	18.8	2.7
6.25 to 6.50	16.0	32.4
6.50 to 6.75	7.2	62.2
higher than 6.75	0	0
Total	100.0%	100.0%

The acid gradient for Gin-buna did not contain carbonic acid higher than 18 p.p.m. as H_2CO_3. The acid gradient for bluegill sunfish contained carbonic acid at the range of 70 to 300 p.p.m. as H_2CO_3.

は泳ぎ込んでいない。ギンブナの低 pH からの回避頻度は，各 pH 範囲に対してほぼ同じ値を持つているから，これらの pH 値の変化は，この魚の回避の強い刺戟となつていないことが推測される。しかし 2.8 というような低 pH 値になるとこの刺戟が急激に増大することが明らかである。bluegill sunfish の場合には，この魚が pH 4.4 の酸性の湖沼に棲息することが知られているから[5]，pH 5.8 の水素イオン濃度が回避の原因となつているとは考えられない。HART[1] の研究によつて bluegill sunfish が自己の呼吸を支えて耐え得る炭酸の最高濃度は 160 p.p.m. と評価されている。著者のこの実験では 5.8 に相当する pH 値の水は，分析によつて炭酸濃度 240 p.p.m. であることが確かめられており，大部分の bluegill sunfish が避けた pH値6.3 から 6.7 の間では，160 から 100 p.p.m. であつた。bluegill sunfish はギンブナに比べて遙か高い pH の水を回避したが，その原因は水中の水素イオンによるものではなく，高濃度の炭酸によることは，したがつて明らかである。

酸性水の粘膜凝固作用は，pH 4.5 以上では起り得ないとされているが[5]，それ以下では pH の低下とともに急速に起り得る。ELLIS[6] はギンブナと同種のキンギョ *Carassius auratus* (L.) について，有機，無機11種の酸類を用いて致死時間を測定し，pH 3.4 から 4.0 までは数時間内に斃死することを明らかにした。また 4.5 から 4.9 までの間では 4 日間の間に斃死の起らなかつたことを観察している。このような事実から考察すれば，ギンブナは安全な pH より遙かに低い pH 値を有する水中に泳ぎ込むことが明白である。pH 値で比較すれば数値の差は僅少になるが，安全濃度を pH 4.5 として，水素イオンのモル濃度で比較すれば，ギンブナは安全な水素イオン濃度の約 50 倍の濃度に泳ぎ込むことになる。したがつてギンブナが到達し得る最低 pH 値は決して安全濃度ではない。bluegill sunfish が到達し得る炭酸の最高濃度もまた数日間その中で棲息し得る安全濃度よりも約 150% も高い値である。したがつて魚が到達し得る最高濃度は，水素イオンの場合も炭酸の場合も，明らかに限界致死濃度以上である。pH 2.8 はギンブナが 100% 回避する濃度である。240 p.p.m. の炭酸濃度は bluegill sunfish が 100% 回避する濃度である。文献に知られる水素イオンの限界致死濃度，すなわち pH 4.5 からのギンブナの回避頻度の百分率は 72%，炭酸 160 p.p.m. からの bluegill sunfish のそれは 88% と計算される。したがつて少なくとも 70% 以上の頻度を持つて魚は危険濃度を検知して，水素イオンあるいは炭酸から逃げ出していることが明らかである。

一方，大部分の魚の平均位置における水素イオン濃度を見ると，ギンブナの場合には大体 pH 6.25 以上である。炭酸濃度を bluegill sunfish について見ると 80 p.p.m. 以下である。良好な水質が存在すればもちろん，これらの pH あるいは炭酸濃度を持つ水質から魚が移動する可能性はあるが，この pH あるいは炭酸濃度に対して，ギンブナあるいは bluegill sunfish は先ず著しい嫌忌を示すことなく生き得るものと推測される。

要　　約

新考案の濃度傾斜槽を用い，軟水および硬水に塩酸を加えて生成された酸の濃度傾斜に対するギンブナの反応および bluegill sunfish の反応をそれぞれ試験し，つぎの結果を得た。

1) 炭酸濃度 18 p.p.m. 以下の酸性水中で，ギンブナが到達し得た最低 pH 値は 2.8 であつた。

2) pH 5.8 以上の酸性水中で bluegill sunfish が到達し得た最高炭酸濃度は 240 p.p.m. であつた。

3) ギンブナが到達し得た最低 pH 値は，水素イオンのモル濃度に換算して，限界致死濃度の約 50 倍であつた。

4) bluegill sunfish が到達し得た最高炭酸濃度は，限界致死濃度の約 1.5 倍であつた。

5) ギンブナは限界致死 pH 値 4.5 を，72% の頻度を以つて回避した。

6) bluegill sunfish は致死限界の炭酸濃度 160 p.p.m. を 88% の頻度を以つて回避した。

この研究の達成に当つて，心からなる援助の手を差し延べられた九州大学富山哲夫教授および Purdue 大学 DON E. BLOODGOOD 教授に対し，ここに深甚の謝意を表するものである。

文　　　献

1) 石尾真弥： 本誌，**26**，349～353 (1960).
2) Klein, L.: Aspects of River Pollution, 186, (1957), New York and London.
3) Jewell, M. E. and Brown, H.; Trans. Am. Microscopical Soc., **43**, No. 2, 77～84 (1924).
Tarzwell, C. M.: Biological Problems in Water Pollution, U.S. Dept. of Health, Education of Welfare, 246～272 (1957).
4) Hart, J. S.: Proc. Florida Acad. Sci. **7**, 221～246 (1944).
5) Doudoroff, P. and Katz, M.: Sewage and Ind. Wastes, **22**, 1432～1458 (1950).
6) Ellis, M. M.: Bull. No. 22, U. S. Bureau of Fisheries Bull, Bur. Fisheries, **48**, 365～437 (1937).

塗料原料とする魚油塩素化物の製造に関する研究—IX.

塩化アルミニウムによる高融点塩素化物の生成

鈴 木 康 策

(1960 年 6 月 15 日受理)

PREPARATION OF A COATING MATERIAL BY CHLORINATION OF FISH OIL—IX.

PREPARATION OF THE PRODUCT WITH HIGH MELTING POINT BY USE OF ALUMINIUM CHLORIDE

Kōsaku SUZUKI*

As an anhydrous aluminium chloride added to the chlorination mixture of polymerized fish oil caused the melting point of a product to raise remarkably, some of the favorable conditions on the use of this reagent were researched. After separation of the strong phosphoric acid with which the reaction mixture was treated as previously reported, the mixture was subjected to the action of an anhydrous aluminium chloride amounting to 20% by weight of the polymerized fish oil used at the start. Temperature of treatment was to be raised step by step from 60°C to 90°C, after the bubbling of hydrogen chloride caused by the addition of aluminium chloride added became quiet down.

The product was seperated as precipitate by methanol from the reaction mixture at the end of the reaction. A fraction constituting about 40% of the product thus obtained was soluble and the rest insoluble in methanol. This insoluble part was characteristic in its insolubility not only in methanol, ethanol but in most of organic solvents except trichloroethylene and chloroform. But in respect of the stability against heat, any notable difference was scarcely brought about by eliminating the methanol-soluble part from the product. Therefore, it will not be all advantageous to take out only the insoluble part at a concider-able loss in yield.

無水塩化アルミニウムは芳香族炭化水素といろいろの有機化合物との縮合の外，脱水素，附加，塩素化，重合等有機化合物間の諸種の反応を活性化する試薬として利用範囲が広い。重合魚油を o-ジクロルベンゼン溶液とし，塩素を通気することにより魚油塩素化物を生成する反応においても，無水塩化アルミニウムの使用は何等かの影響を与えることが予想されるので実験してみたところ，事実塩化水素の発生を伴い，高融点の塩素化物の生成が認められた。防火性塗料の原料としては融点の高いことが好ましいので，魚油から生成される不燃性塩素化物の融点を上昇する目的で，種々実験検討した結果を報告する。

実験および考察

I. 無水塩化アルミニウムの使用量，使用温度

重合魚油の o-ジクロルベンゼン溶液に無水塩化アルミニウムを直接作用させた場合には，魚油は犯されて塗膜形成能を持つ生成物を与えなくなるから，前報[1]の通り強リン酸による処理を終つた後，強リン酸を分離した反応混合液に始めて無水塩化アルミニウムを作用させる。

* 東京水産大学沼津実習場 (Numazu Fish. Lab., Tokyo Univ. Fish., Numazu, Shizuoka Pref., Japan).

さて，重合魚油[2] 24g を前報通り[1] 塩素化し，反応混合液 192g を得た。今この中から試料とした重合魚油 2g に相当する分量として 16g づつ A, B, C 三つに取り，無水塩化アルミニウムをそれぞれ 0.2, 0.4, 0.6g（重合魚油に対しそれぞれ 10, 20, 30%）作用させた。まず A の場合，50°C において無水塩化アルミニウムを溶解せしめたが，溶解に約 20 時間を要した。引続き同温度に 30 分保つた後，10°C または 20°C づつ反応液の温度を上げて行き，各温度における 30 分の処理が終つた時，反応液の一部を取り，5～10 倍量の四塩化炭素でうすめ，時計皿上で 130°C, 30 分加熱蒸発し，薄い塗膜状に残つた残渣を掻き取り，顕微鏡法で（定温加熱 1 分後，倍率 200 倍で観察）融点を測定した。その結果は Fig. 1, A のように融点が約 20°C 上昇した。殊に B, C における融点の上昇は飛躍的である。A の実験からわかるように，50°C では無水塩化アルミニウムの溶解に長時間かかるばかりでなく，90°C 以下では作用も緩慢である。ゆえに，B, C においては処理温度を 90°C から始めた。C においては最高 284～286°C の融点を示したが，不溶性の副生成物が多量混在し，塗膜を形成する生成物としては不均一で，平滑な塗膜が得られず，塗膜形成上好ましくない。B の融点は 278～280°C で，C より僅かに低いが，C の場合に見られたような不溶性の副生成物がなく，塗膜形成上支障がないので，無水塩化アルミニウムの使用量は原料重合油の 20% を適量と認める。

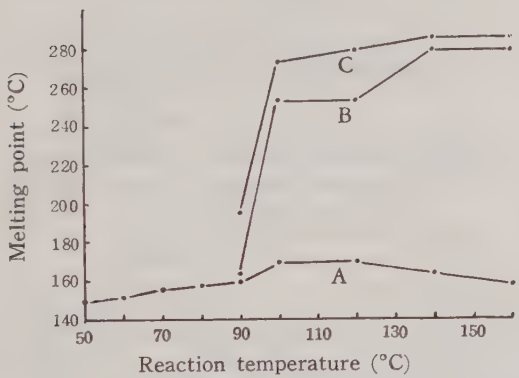


Fig. 1. Effect of the use of anhydrous $AlCl_3$ in chlorination on the melting point of the product.
Amount of $AlCl_3$ used,
A····10% of polymerized fish oil
B····20% 〃 〃
C····30% 〃 〃

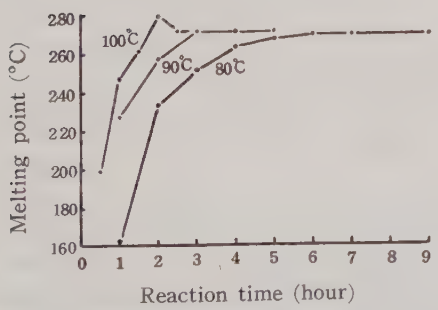


Fig. 2. Gradual rises of melting point for the reaction products formed with $AlCl_3$ at different temperatures.
Composition of the reaction mixture is the same with B in Fig. 1.

次に塩化アルミニウムの使用温度すなわちその適用下における魚油の処理温度であるが，Fig. 1 の結果から 90～100°C で特に融点上昇の著しいことがわかつたので，80, 90, 100°C の一定温度で処理し，前同様に融点を求め，処理時間との関係を示せば Fig. 2 の通りである。反応液は Fig. 1 の B と同じものである。図において，処理温度が 100°C の時は Fig. 1 の B と同じ融点に達したが，全体としては不均一で，Fig. 1 の C に似て，塗膜形成に不適当であつた。処理温度を 100°C 以上にすれば当然この欠点が増大する。その上処理時間が長びくと融点が低下し，90°C 処理の場合と同融点のものになる。しかし，Fig. 1 の実験では処理温度が最後に 130, 150°C に達してもこういう支障は現われなかつた。Fig. 2 の 80, 90°C 処理のものは融点 270°C 前後で，100°C 処理のものより僅かに低いが，塗膜形成上支障のない生成物であるから，90°C, 3 時間の処理を適当と認める。しかし，Fig. 1, B と Fig. 2 とを比較すれば，処理温度を終始一定に保たず，次第に上昇して行く方が高融点の生成物を生じるように思われる。なお Fig. 1, Fig. 2 の実験において顕微鏡法で融点を測定した時，大体 260°C 以上の融点のものになると，それ以下のもののような明瞭な融点を示さず，溶融の前に一部炭化し始めるように観察された。

II. 生成物の熱分解，融点について

Fig. 1, 2 に示した融点は正しく言えば生成物の融点ではなく，反応液の蒸発残渣の融点である。

反応中の変化を追求する手段として融点を比較する意味においてはそれで支障ないが，実際生成物を収得するには反応液（ここでは Fig. 2, 90°C の場合の反応液）のメタノール処理[8]によつて粉末状に沈殿させて分離する。沈殿をメタノールで洗浄し，45°C で1夜乾燥後，残余の揮発分を 90°C, 2時間加熱して除去し，次のような生成物を得た。

外　観	黒褐色粉末
塩素含有率（カリウス法）	65.3%
アルミニウム含有率	0.12%
灰　分	0.62%
収率（原料重合油に対し）	200%

アルミニウムの分析は生成物を封管内で発煙硝酸によつて分解し，pH 調整後，クロムアズロールSを指示薬として EDTA 法で滴定した。収得した粉状の生成物をメタノールで煮沸しても，メタノール中にアルミニウムが検出（アリザリンSによる）できなかつたので，上記のアルミニウムは単に混合している塩化アルミニウムではなく，メタノール不溶の魚油塩素化物に結合しているものであろうと考えられる。

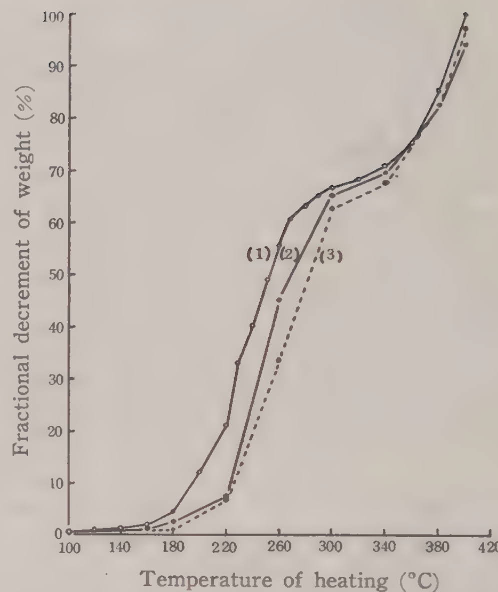


Fig. 3. Thermal decomposition of the product.
(1) A product obtained with $AlCl_3$ at 90°C (See Fig. 2).
(2) The product (A) of Table 2.
(3) The product (B) of Table 2.

ここに得た生成物の耐熱性を見るため，熱分解を行なつてみると Fig. 3 の (1) のようになつた。これは生成物 0.4g を精秤し，100°C, 30 分加熱後，重量の減少率を求め，引続き順次図の各温度で同様に行い，各温度に至るまでの重量減少率を示したものであるが，図で見ると分解点は 180～200°C で，したがつて融点は 180°C 以下であろうと思われる。なお 340°C の屈曲点は灰化温度である。初期の生成物[1]の融点が 53～54°C であつたのに比べると Fig. 3 のものは耐熱性の点では格段に改善されたが，Fig. 2 のものの融点に比べてなお 90°C 以上低いことになる。顕微鏡法で測定して見ると 176～178°C であつた。Fig. 2 の場合より融点が低い理由を考えてみるに，Fig. 2 の場合は反応液の 130°C における蒸発残渣であり，Fig. 3 の生成物は 90°C で揮発分を除去したに過ぎないから，90～130°C で除去される揮発分がまだ残存しているために融点が低いのであろうとも考えられる。もしそうなら，この粉末生成物を一度溶剤に溶かし，Fig. 2 と同様にして蒸発残渣の融点を求めれば，同じ融点 (270～272°C) が得られるだろうと考えられた。しかし実験結果は依然として 176～178°C であつた。したがつて 90°C の加熱で粉末生成物の揮発分はすでに十分除去されていたわけである。よつて，Fig. 2 の場合は単に反応混合液の蒸発残渣であつたから，メタノールによつて沈殿されない成分（アルミニウム化合物など）が混在していて高い融点に達したものと考えられる。結局塩素化生成物の融点としては 176～178°C が正しいと見做される。

III. 生成物の塩素による脱色

無水塩化アルミニウムの作用によつて魚油塩素化物の融点を前記のように 176～178°C まで高くすることができたが，色が黒褐色を呈するので，塗料原料としては利用範囲が著しく制限されてしまう。ゆえに無色か淡黄色少くとも淡褐色のものを製造したい。その手段として黒褐色生成物のトリクロールエチレン溶液に塩素を通気して脱色を試みたが，効果がなかつた。次に無水塩化アルミニウムを作用させる過程において，反応液に終始塩素を飽和させておき，着色物質が生成されると同時に酸化脱色が行なわれるように試みた。このようにしても反応液は次第に暗褐色になつて行くが，反応終了後，メタノールによつて沈殿せしめた生成物は淡黄色の粉末状なので，純白とまでは行かないが，ほぼ目的を達することができたと思う。反応液に

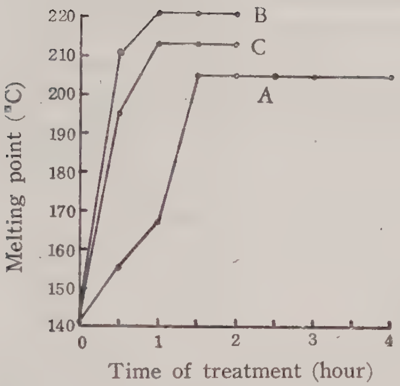


Fig. 4. Melting point of the product prepared with anhydrous aluminium chloride from the reaction mixture diluted with carbon-tetrachloride.

Temperature of treatment····90°C

The reaction mixture is identical with that in Fig. 1, B.

B····CCl_4 was added to the mixture by an amount as much as fivefold by weight of the polymerized fish oil in the mixture.

C····tenfold by weight.

A····Control test, without CCl_4–addition.

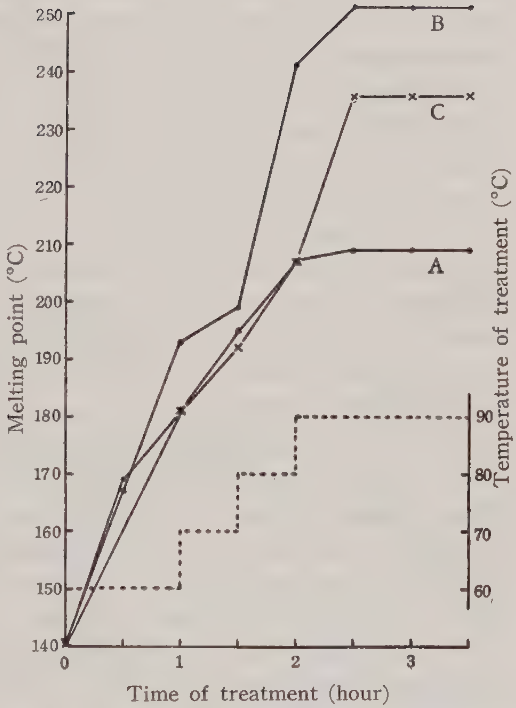


Fig. 5. Elevation of melting point of product with the rise of reaction temperature.

The reaction mixtures A, B, C are identical with A, B, C in Fig. 4, respectively.

······: Temperature of treatment.

塩素を飽和した上で無水塩化アルミニウムを作用させると，反応が激しくなり，僅かながら不溶解性の生成物も生じたから，反応を緩徐に進行させる意味でまず四塩化炭素で稀釈してから反応せしめた。稀釈の割合は Fig. 4 の B, C の通りで，絶えず塩素を通気しつつ無水塩化アルミニウムを作用させた外は Fig. 2 の処理温度 90°C の場合と同様にして融点を求め，Fig. 4 に示した。これは Fig. 2 の融点より低いが，B のように原料油の 5 倍（重量で）の四塩化炭素で稀釈した場合，最高融点の生成物が得られた。

また，Fig. 1 の B と Fig. 2 を比較してみると，処理温度は定温に保つより，低い温度から次第に上昇させて行く方が得られる生成物の融点を高くするようである。このことについては I. のところで指摘したように，塩素を通気しながら無水塩化アルミニウムを作用させる Fig. 4 の場合も同様であろうと考え，Fig. 4 の実験を行なうに当り，処理温度を始め 60°C とし，塩化水素の気泡発生が緩慢になつた時期を見て温度を逐次上昇して反応せしめると，融点は Fig. 5 の通り変化して，Fig. 4 に比べ明かに高い値が得られる。特に，B, C において上昇した。しかし，Fig. 5, B において 90°C, 30 分の処理後，同温度で 60 分処理を続けても融点の変化はないが，温度を上げて 98°C（反応液の沸点）で 30 分処理すると生成物の融点はかえつて 12°C 低下した。ゆえに，処理温度の上昇は 90°C までにとどめるべきであり，生成物の融点は Fig. 5, B のように 250～252°C が最高であるといえる。

IV. 生成物のメタノールに対する溶解性について

反応液から塩素化生成物を取得するにはメタノールによつて沈殿分離するのであるが，これまでの生成物はメタノールに溶解しないので，メタノールは良好な沈殿剤であつた。今，Fig. 5, B の反応終了後，同様にして生成物を沈殿せしめたが，その収率は 125%（対原料油）で II. に述べた 200% よりかなり少ない。また沈殿状況を見ると，静置しても母液が清澄に分離せず，得られた沈殿をメタノールで繰り返し洗浄しても，沪過して得た清澄な洗液はなおアルミニウムを含んでいる（アリザリンSにより検出）。これらの点から

生成物がメタノールに一部溶解するのではないかと疑われたので，生成物のメタノールに対する溶解性を検討して見た。その結果は Table 1 に示す通りで，No. 1, 3 のように 40°C 以下でも溶解し，No. 2 のように 50°C においては 40°C の時の2倍の溶解度に増大する。したがつて反応液からメタノールによつて生成物を沈殿せしめる際は冷却して行わなければ収率が低下する。また同表の No. 3, 4, 5 からわかるように，同一量のメタノールに加えた生成物の量が多い程，溶解量も増加する（他方 No. 5 のように添加量が少ない場合でも一部不溶のまま残存する)。ただし比例的関係は認められない。しかし，一定の溶解度を持つ単一物質の溶解においてはたとえ少量でも未溶解のまま残存する以上，添加量を増しても溶解量が増加するということはないはずであるから，ここに得た塩素化生成物はメタノール不溶性のものと可溶性のものとの混合物であり，可溶性のものも無限に溶解するのではなく，ある溶解度をもつもののようである。No. 5 のようにメタノール 60 g に対する生成物 0.025 g というのは極めて微量であるから，この場合の生成物の溶解率 39.2% (逆にいえば不溶部 60.8%) というのは生成物をメタノールで連続抽出した時の抽出率と見てよい。つまり約 61% の抽出残渣が得られるだろうとの示唆と見られる。実際，ソックスレー抽出器でメタノールによる連続抽出（抽出温度約 58°C）を行なつたところ Fig. 6 の通り，果して 61% の残渣が残つた。そこで，この抽出残渣 (Table 2 の (B) とする) とメタノール抽出を行なう前の生成物 (Table 2 の (A) とする) の二，三の性質を比較すれば Table 2 の通りである。(A) は繰り返しメタノールで洗浄すれば (B) となるべきものであるから，反応液から生成物を収得するに当り，メタノール洗浄を余り行なわなければ (A) に近いもの，繰り返し行なえば (B) に近いものが得られることになる。なお，Table 2 の (A) は 45°C 1夜乾燥後，110°C, 60 分，(B) は 180°C, 30 分加熱し揮発分を除去したものである。Table 2 に示した (A) の融

Table 1. Solubility in methanol of the product obtained from the reaction mixture B in Fig. 5.

No.	Sample	Methanol	Temperature	Solubility*	Percentage of the amount dissolved by weight of total Sample
1	0.100 g	60.0 g	9～12 °C	0.025 g	— %
2	〃	〃	50	0.062	—
3	〃	〃	40	0.0309	30.9
4	0.050	〃	〃	0.0181	36.3
5	0.025	〃	〃	0.0098	39.2

* amount of sample dissolved in 60g of methanol in 24 hours.

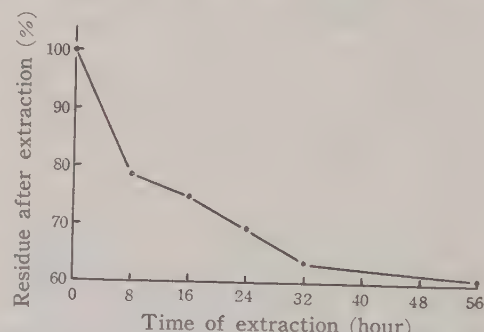


Fig. 6. Extraction of the product by methanol.

Table 2. Properties of the product (A) precipitated out of the reaction mixture B in Fig. 5 and the product (B)obtained as residue after extraction of (A) by methanol.

	Product (A)	Product (B)
Appearance	Pale yellow powder	〃
Melting point	220～222°C	300°C*
Chlorine content (Carius)	63.8%	61.7%
Ash 〃	1.45%	1.73%
Aluminium 〃 (EDTA)	0.63%	0.83%
Phosphorus[5] 〃	0.24%	0.38%
Mean molecular weight (Rast)	1130	1560
Sp. gr. (15°C)	1.4	1.8
Yield (on the basis of raw material oil)	125%	76.5%

* It was probable that the product decomposed below 300°C- Mp was obscure.

点は 220～220°C であるが，一度これを溶剤たとえばトリクロルエチレンに溶かし，時計皿上で 130°C, 30 分加熱蒸発して得た薄い塗膜の融点を測定すると 246～248°C であつた。(A) には揮発性の物質が含まれていると思われるが，収得に当り 130°C で熱すると (A) は多少焦げるおそれがある。(B) の方は明瞭な融点を示さず，300°C, 1 分の加熱で炭化の兆候が見られた。しかし長時間加熱すればもつと低い温度においても徐々に分解し，溶融する前に一部の分解が始まるのではないかと思われる。

無水塩化アルミニウムは反応に際して原料油の 20% も使用されるが，生成物のアルミニウム含有率が Table 2 の (B) のように僅か 0.83% で，$AlCl_3$ に換算しても 4.1% に過ぎないから，大部分はメタノールにより抽出せられ，残存しているアルミニウムはメタノール不溶性の魚油塩素化物と化合しているものであると見られる。このようにアルミニウムの結合量は僅かであるにもかかわらず，融点が著しく上昇する点からみて，塩化アルミニウムが魚油塩素化物に単に結合するばかりでなく，塩素化生成物の分子量増大にも役立つているのではないかと考えられる（分子量の大きい方が高い融点を持つ)。

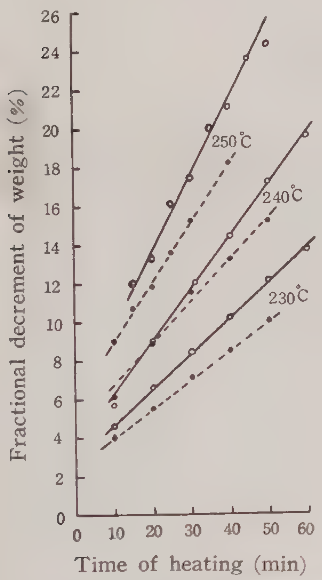


Fig. 7. Thermal decompositions of the products (A) and (B) in Table 2.
—○——○—: (A)
··●····●··: (B)

Table 2 の (A), (B) の著しい差については融点の外に溶剤に対する溶解性が問題になる。(B) は，

（1） メチルアルコール，エチルアルコール，石油エーテル，リグロイン，四塩化炭素，テレビン油，アセトン，魚油，ボイル油に溶解せず。

（2） ベンゼン，トルエン，キシレン，エチルエーテル，モノクロルベンゼン，*o*-ジクロルベンゼン等の 100g に対す溶解量は 13～15°C において 0.01g 以下。

（3） トリクローエチレンには自由に溶け，クロロホルムにも自由に溶けるが，溶液は多少混濁する。つまり不溶性のものが多少 (B) 中に含まれている。

以上のように (B) に対す良好な溶剤は少ないが，(A) はメタノール可溶性のものを含有しているので，上記 (2), (3) の溶剤および四塩化炭素等に対して可溶であるが，溶剤によつては必ずしも透明溶液とならず，また熱時透明でも冷時混濁する場合もある。もちろん (B) 部を混有しているからである。このように (B) は大抵の溶剤に犯されない点と高融点とを特長とするが，防火塗料の原料としては熱分解の状態から見ると，Fig. 3 の (2), (3) を見ても，Fig. 7 の各温度における重量減少率を見ても，(B) の方が僅かに耐熱性が強いというだけで，熱分解に関してそれ程著しい差はないようである。しかし収量の点から見ると，Table 2 に示す通り，(B) は (A) の 60.8% となり，激減するので，あえて (A) からメタノール可溶部を除去するには及ばず，なるべく収量の増加を考慮して (A) のような生成物を取得するように努める方がよいと判断される。

総　　括

重合魚油を *o*-ジクロルベンゼン溶液にして前報通り塩素化した後，反応液に原料重合油の 5 倍（重量で）の四塩化炭素を加えて稀釈し，無水塩化アルミニウムを原料重合油の 20% 加え，60～90°C の間において徐々に昇温しながら処理する。この際塩素通気を中絶すると生成物の色が黒褐色になるから，通気を続ける。次に反応液からメタノールによつて生成物を沈殿せしめ，沪過してメタノールで洗浄し，1 夜 45°C で乾燥した後，更に 110°C, 60 分加熱し，揮発分を除去して Table 2 (A) のような生成物を得る。メタノールによる洗浄を繰り返せば，最終的にはトリクロールエチレン，クロロホルム以外の大抵の溶剤に対し不溶性でかつ融点 300°C 近い生成物 (Table 2 (B)) が得られる。ただし収量は激減し，その上 (A), (B) 間に

熱分解上の大差は認められないので，収量の点から見て（A）のような塩素化物を収得するように努めるべきである。

終りに東京工業大学舟木教授の懇切な御指導に対し，厚く御礼申し上げます。

文　　献

1) 鈴木康策： 本誌，**26**，508 (1960).
2) ———： ——，—，835 (1960).
3) ———： ——，**24**，381 (1958).
4) ———： ——，—，45 (1958).
5) J. A. Brabson, O. W. Edwards: Anal. Chem. **28**, 1485 (1956).

食品のイノシン酸含量—III.
各種水産食品

藤田孝夫・橋本芳郎

(1960 年 6 月 28 日受理)

INOSINIC ACID CONTENT OF FOODSTUFFS—III. MARINE PRODUCTS.

Takao FUJITA and Yoshiro HASHIMOTO*

Inosinic acid, a tasting substance of foodstuffs, was determined on the various kinds of commercial marine products by the column chromatographic method. The results are given in Table 1. Figures in the table show that inosinic acid is rich in fresh or frozen meat of marine vertebrates, but scanty in both invertebrate meats and a seaweed. Marine foods, such as boiled and dried fish or canned fish, generally reveal a relatively high value, probably due to inactivation of the enzyme system connecting with degradation of inosinic acid by heat, which is applied to these foods in the processing. This fact, on the other hand, indicates the stability of the acid to heating commonly used in food processing. Little acid is detected in dried or kippered fishes.

The change of inosinic acid content during drying and autolysis was pursued on jack mackerel meat. As shown in Table 2, the earlier changes, namely, the rapid rise and slow fall, are similar in both cases, whereas a distinct difference is observed in the last stage. Although the acid disappears completely in autolysis, a considerable amount of it is retained in dried fish. This may suggest that a rapid dehydration is also effective in keeping this tasting substance.

イノシン酸は従来より食品の主要な呈味成分に挙げられてきたが，最近になり新しい調味料としても注目されるようになり，[1)–3)]，その呈味効果[4),5)]，アミノ酸との相乗効果等が研究され，また調製法[2),5),6)]も検討されている。しかし市販食品中のイノシン酸量についての知見は未だ乏しく，イノシン酸が実際に食品の味にどの程度関与しているかを推察するのは困難である。そこでわれわれは前報[7)]において検討した定量法を用い，各種市販食品主として水産食品のイノシン酸含量を定量した。また前報[8)]のかつお節にひきつづきあじ素乾品製造中のイノシン酸の消長についても調べたのでこの結果をあわせて報告する。

実験ならびに結果

定量法　まづ試料の骨，皮等を除いた可食部をとり，5% 過塩素酸5倍容を加え 15 分間ホモゲナイザー中で磨砕し遠心分離して得た上澄を，5N KOH にて中和して抽出液を得た。またヌクレオチドの定量法は前報[7)]記載の通りでギ酸型 DOWEX 1 を用いたイオン交換クロマト法によつたが，イノシン酸のみの定量にはその簡易法（定量法 C）を用いた。また水分は Radiation Moisture Balance（日本冶金化学工業製）により測定し，揮発性塩基窒素は CONWAY の微量拡散法にて測定した。

各種食品のイノシン酸含量　各種食品のイノシン酸含量を定量した結果は Table 1 に示す通りであるが，前報[7)]に報告したもののうち数種を比較対照の便宜上併記した。イノシン酸はきわめて変動しやすい成

* 東京大学農学部 (Lab. of Fish. Chem., Fac. Agr., The Univ. Tokyo).

分であり，食品の鮮度，貯蔵条件，製造法等によりその含量は大きな影響を受けるものと思われる。したがつて市販品一例の今の定量結果では必ずしも決定的とはいい難いが，各種の食品の間の一般的な傾向は伺い得ると思われる。すなわち Table 1 に見られる顕著な傾向は，脊椎動物の鮮肉，煮乾品のイノシン酸含量が非常に高いのに対し，冷蔵肉および加熱加工された食品が中程度の含量を示し，また無脊椎動物および植物性食品は含量がきわめて低い。以下食品の種類に応じて多少の考察を加える。

Table 1. Inosinic acid content of various kinds of foodstuffs.

Specimens	Moisture %	Inosinic acid mg% on dry basis	Note
Jack mackerel	78.8	853	Ice-stored
White croaker	75.6	36	〃
Skipjack	74.3	822	Frozen
Mackerel	74.5	1300	Three hours after death
Sperm whale	75.0	242	Stored in the frozen state for six months
Fin whale	74.8	385	〃
Beef	74.0	443	Stored in an ice-box for four days
Canned salmon	67.3	104	
Tuna sausage	69.9	56	
Dried jack mackerel	72.1	14	
Cured horse mackerel	27.8	14	
Dried round herring	30.6	72	
Dried cod	20.6	0	
Kippered salmon	44.2	2	
Boiled and dried anchovy	18.4	863	
Boiled and dried anchovy fry	63.6	439	
Katsuwobushi (dried bonito)	13.8	742	
Ear shell	75.7	0	
Sea urchin (gonads)	77.4	17	
Dried squid	22.8	23	
Dried shrimp	24.1	99	
Laver (Porphyra tenera)	85.5	5	

生鮮肉では，あじ，かつお，さば，いずれも高いイノシン酸含量を示している。さばは死後3時間を経過した試料で含量が最も高く，Table 2 に示したあじの場合でも死後3時間で最大を示し乾物量の 1.3% 程度に達しているが，これは筋肉中の ATP (adenosine triphosphate) が死後脱燐酸脱アミノを受けてイノシン酸に変化し，これが一時的に蓄積するためである。蓄積したイノシン酸は冷蔵中に減少するとしても尚氷蔵あじ，冷凍かつおに見られるように高い含量を示しているが，一方シログチの値は非常に低く，JONES[8] が6日間氷蔵したタラについて報告した値とほぼ一致しており，冷蔵魚肉中のイノシン酸はその鮮度，貯蔵条件によつて大きく変動することが認められ，これは斉藤[2] の各種冷凍魚肉の測定結果と同様であつた。また鯨肉では抹香鯨，長須鯨いずれも約半年の長期間冷凍貯蔵された後でもかなりのイノシン酸が認められる。次に牛肉は死後4日を経過し適度に自己消化した市販品であるが，やはり中程度のイノシン酸含量を示している。

次に乾製品できわめて顕著な点は，煮乾品，節類のイノシン酸含量が非常に高いのに対し，素乾品，塩乾品，燻製品が低いことである。煮乾品では死後イノシン酸が蓄積した状態において煮熟を行うため，イノシ

ン酸分解に関与する酵素系が加熱によつて破壊され，以後はイノシン酸は比較的安定に保たれるものと思われる。すなわち前報[8]に示した通り，かつお節製造の際には長期にわたる複雑な工程を経てもイノシン酸の70% は残存する。煮干はイノシン酸含量も高く，長期の保存にも適し「だし」としては優秀なものと思われる。一方素乾品，塩乾品のイノシン酸含量が低いのは，一度蓄積したイノシン酸が乾燥中に漸次減少するためで，その模様は Table 2 に示す通りである。なお，燻製品も素乾品と同様である。

また，缶詰，ソーセージ等の加熱工程を含む加工食品にも相当量のイノシン酸が認められるが，これは煮乾品と同様の原因によるものであり，缶詰製造のような加熱条件でもイノシン酸は安定に保たれることがわかつた。

次に無脊椎動物のイノシン酸含量が低いのは，筋肉中のATP が死後分解する際，無脊椎動物では脱アミノがほとんど認められず，アデニル酸の形で蓄積するためである。したがつて乾製品の含量も同様に低い。

また，植物食品のイノシン酸含量も低い。これはイノシン酸の給源となる ATP が少いためである。前報で述べたように，椎茸，味噌等の食品にも認められなかつた。

あじ素乾品製造中のイノシン酸の消長　乾製品のうち，かつお節製造中のイノシン酸量の変化については前報で述べたが，ここではイノシン酸の大部分が消失する素乾品，塩乾品の例として，あじ素乾品製造中のイノシン酸の消長を調べた。素乾品のイノシン酸含量は一般に低いが，分析した試料のうちある程度イノシン酸の残存している例もあり，試料ににより差が見られる。そこできわめて鮮度の良いあじを用いて素乾品を製造し，魚肉の乾燥がヌクレオチドの保存におよぼす効果について調べ，同時に対照として自己消化させた魚肉のヌクレオチドの変動についても測定した。

この製造実験は東大三浦実験所において行ない，使用したあじは漁獲後 3 日間蓄養した平均体長 10cm，体重 17g のもの 60 尾である。あじは頸部を切つて即殺し，半数は開き身として天日乾燥し素乾品を製造したが，10 時間以後は日没のため屋内にて風乾した。また残りの半数はビニールにて覆い乾燥を防いで室温 (27～31°C) に放置し対照群とした。これらの試料から即殺後の経過時間 1, 3, 6, 9 および 19 時間において各 6 尾づつを採取し，ドライアイスにて凍結貯蔵して研究室に持ち帰り分析を行なつた。尚実験の都合上即殺後 1 時間より日乾を開始した。また即殺後直ちにアセトン・ドライアイス混液にて凍結した試料についても分析を行なつた。その結果は Table 2 に示す通りである。素乾品の水分は乾燥 19 時間後 43% に減少し，また自己消化群の揮発性塩基窒素は除々に増加し，9 時間頃より初期腐敗の状態と認められた。

素乾品製造中のイノシン酸の消長をみると，乾燥初期は対照の自己消化させたものとほとんど同様の変化

Table 2. Change of inosinic acid content during the sun-drying and autolysis of jack mackerel meat*

Time in hours	Drying		Autolysis		
	Moisture %	Inosinic acid mg% on dry basis	Moisture %	Volatile basic nitrogen mg%	Inosinic acid mg% on dry basis
0**	77.4	256		19	
1	77.4	424		19	
3	73.0	1061	77.2	39	1315
6	63.0	930	76.1	43	890
9	53.5	609	77.6	81	475
19	43.0	494	77.6	216	0

* Live jack mackerels (body length 10 cm) were killed and divided into two groups, one of which was dressed and cut open for drying in an hour. The fish were then sun-dried for ten hours and continuously air-dried within a room. The other group was put in a vinyl bag and left at the room temperature.

** A part of the live fish was killed and instantly frozen with acetone-dry ice for analysis.

を示し，3時間で最大値を示し以後は漸次減少しているが，対照に較べ減少の度合が小さいことが認められる。対照では5時間以後急激にイノシン酸が減少し，12時間程度で消失すると思われ，19時間経過の試料には全く認められない。素乾品では9時間以後も更に減少の度合が小さくなつており，乾燥の効果が認められ19時間乾燥の素乾品にも最大値の約半量が残存した。6時間までの試料は素乾品，対照とも全ヌクレオチドの分析を行ない，それ以後はイノシン酸のみを定量したが，イノシン酸以外のヌクレオチドとしては，ATP, ADP (adenosine diphosphate), アデニル酸が認められた。ATP 含量は即殺魚では非常に高いが，3時間経過したものでは乾燥，対照共に全く消失しており，それに相応するイノシン酸の生成が認められている。また，ADP，アデニル酸は含量が低く，漸次減少を示すが，その変化は小さい。また，カラムクロマトの際，ヌクレオチドに先立つて流出する区分をイノシンとヒポキサンチン混合区分と推定すると，3時間以後のイノシン酸の減少に相応してこの区分が増加するのが認められた。

以上，きわめて鮮度の良い魚を急速に乾燥すれば，ある程度イノシン酸が残存することもあると思われるが，通常行われている素乾品，塩乾品の製造条件では，イノシン酸含量は当然低くなるものと思われる。

要　　約

各種水産食品についてその呈味成分であるイノシン酸含量を測定した結果，次のような傾向が認められた。脊椎動物では生鮮及び冷凍品に多く，煮乾品，缶詰等加熱工程を含む食品にも多いが，素乾品，塩乾品等には少く，一方無脊椎動物及び植物食品にも少い。

魚肉素乾品製造中のイノシン酸含量の変化はほぼ自己消化の場合と同様で，一時生成蓄積するイノシン酸は漸次減少するが，自己消化では全く消失するのに反し，素乾品では乾燥末期にはイノシン酸の減少が止り製品には比較的イノシン酸の残存量が多いことが認められた。

文　　献

1) 坂口謹一郎： 食品工業，**12**, 29 (1959).
2) 斎藤恒行： 化学，**15**, 101 (1960).
3) 井上　昂： 日本醸造協会雑誌，**54**, 658 (1959).
4) 鴻巣章二・前田安彦・藤田孝夫： 本誌，**26**, 45 (1960).
5) 国中　明： 日本農芸化学会関東支部第 198 回講演会 (1960).
6) 国中　明： 特許公告，昭 34—2842 (1959).
7) 藤田孝夫・橋本芳郎・森高次郎： 本誌，**25**, 147 (1959).
8) 藤田孝夫・橋本芳郎： 本誌，**25**, 312 (1959).
9) JONES, N. R.: *Biochem. J.*, **66**, 5p (1957).

かまぼこの足について—XI.
足の評価

志水 寛・清水 亘

(1960 年 6 月 28 日受理)

"ASHI" OF KAMABOKO—XI.*
EVALUATION OF "ASHI"

Yutaka SHIMIZU and Wataru SIMIDU**

Kamaboko is a food something like sausage made of fish meat. The so-called "ashi", overall rheological properties of this food, has been regarded as the most important quality factor.

The present paper deals with the kinesthetic components of "ashi" which kamaboko gives those who eat it, such as "softness", "toughness" and "shortness and crispness" and shows how closely they will affect our preference of "ashi".

(1) The "shortness and crispness" which may be associated with our feelings in cutting a kamaboko off with teeth, and the "toughness" affect our evaluation of the quality of "ashi", while the "softness" has little or nothing to do with the quality.

(2) The stretching-test has been developed for the purpose of an objective evaluation of the "toughness" of kamaboko. Scores for the "toughness" evaluated by the organoleptic tests correspond to values of the gel-strength which we have defined as the product of the tensile strength (g) and the maximum elongation (cm) of a strip of kamaboko.

水産ねり製品の品質は，外観，味，および“足”の3つの要因いかんによつて評価されるといわれるが，かまぼこのばあい，“足”のよしあしはこの3つの品質要因のうちでもつとも重要視されるようである。“足”という言葉は，ねり製品を口にするときの歯ごたえ，歯ざわり，歯ぎれ等，この食品の物性にもとずく食味の総称であるとみられ，その評価はこれまでもつぱら経験的，官能的になされており，物性論的考察はあまりなされていないが，近年，製品の品質管理の必要性が認められるにつれて，“足”の質の客観的な表示方法が望まれるようになつてきた。

著者らは，“足”を構成するもつとも重要な要素として“足の強さ”をとりあげ，その客観的測定の手段を講ずるとともに，これに影響するいろいろな製造学的要因について研究を進めてきた。しかし，“足のよしあし”の評価は“足の強さ”だけによつてきまるのではなくて，三宅ら[1]も指摘したように“歯ぎれ”その他の物性にもとずくいろいろな食感要素がこれに関与していると考えねばならない。

本報は，“足の質”の主観的な評価がどのような食感的要素と結びついているかを官能検査によつて検討するとともに，“足の強さ”の客観的測定法としての引張り試験について若干の改良を加えたものである。

実 験 1.

実験方法

試料 全国各地から集めた 14 種のかまぼこ。

---

* “Jelly-strength” が “足” のもつ意味を正確に伝えていないと考えられるので，これまで用いてきた英文表題 “Jelly-strength of Kamaboko” を本題のように改める。

** 京都大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

官 能 検 査

パネル： 京都大学農学部水産化学研究室の研究員6名をもつて構成する。そのうちの 3 名はねり製品関係の研究に従事していて，その品質には特別の関心をもつており，また他の3名をも含めてこれまでに数回にわたるかまぼこの品質鑑定の経験がある。

試験方法： 14 種の試料を7種づつの2組に分け， 順位づけ (ranking test) によつてそれぞれ“足のよしあし”，“やわらかさ”，“足の強さ”，“歯ぎれのよさ”の4項目について各試料をランクする。ただし，“足のよしあし”については判定人の嗜好にしたがつて評価するが，他の3つの項目については嗜好とは無関係にその要因の強さの順に順位をつけるように指示した。試料はすべて約 1cm の厚さに切つて試食に供し，試料の提出順序は無作意にきめる。判定に要する時間には制限を設けず，また繰り返しテストも自由とした。

ひつ張り試験

Fig. 1 のようなダンベル型のかまぼこ試片を一定速度 (0.33 cm/sec.) でひき伸ばし，破断にいたるまでの伸びと力の関係を記録用紙に自記させる。 Fig. 2 は著者らが用いた引張り装置と自記装置を模式的に示したものであり，Fig. 3 はこれによつて得られた伸び/応力図形の1例である。

Fig. 3 において変形曲線，伸びの軸，および破断点から伸びの軸におろした垂線によつて囲まれた扇形の面積は，破断するまでに試料に対してなされた仕事の総和であつて，試料が貯え得る潜状エネルギーの限度*いいかえると試料の内部構造における結合の状態を示すと考えてよいであろう。したがつて，扇形 ABC の面積の大きさをもつてかまぼこの“強さ”を表示すればよいのであるが，面積をいちいち測定することの面倒さを避けるためと，また著者らの目的がかまぼこの強さを比較し得る客観的な指標を得ることにあり，その意味で曲線 AB を直線 AB とみなしても大きな誤りを招かないと考え，試料の最大伸びとその応力の積，すなわち矩形 ACBD の面積をもつてかまぼこのゲル強度と規定することにした。

著者ら[2] はさきに，引張り試験における破断応力と最大伸びがともに“足の強さ”の主観的評価に関係していることを確かめ，

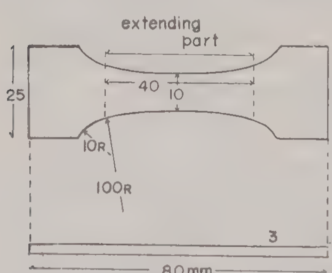


Fig. 1. Shape and dimension of test specimen.

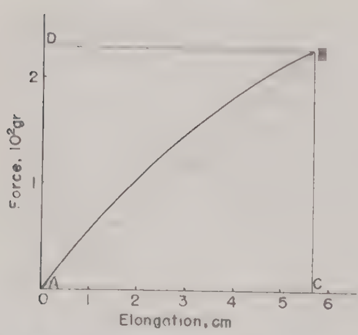


Fig. 3. Typical force vs. elongation curve for kamaboko strip.

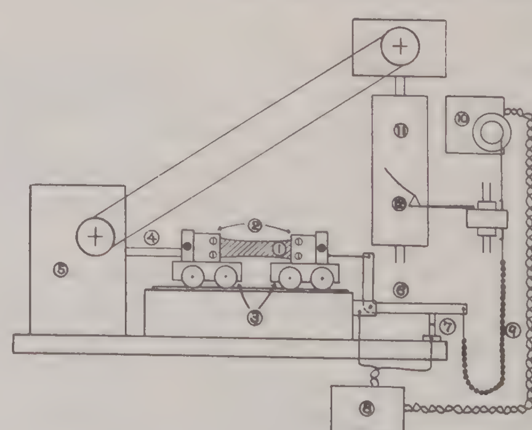


Fig. 2. Schematic diagram of the apparatus used for stretching-test.

① test specimen, ② clamps, ③ carriages, ④ guiding rod, ⑤ driving unit, ⑥ angle-shaped beam, ⑦ point of electric contact, ⑧ electroric relay, ⑨ chains, ⑩ driving unit, ⑪ recording drum, ⑫ pen.

* 応力緩和やクリープ試験の結果からみると，かまぼこの塑性はひじように小さいことが分つている。

それらを統計的に処理して次のような“足の強さ”の表示式を導いている。

$$X = \log(1.05 \times F^4 \times L^9)$$

ここで，X は“足の強さ”，F は破断応力 (10^3 g/cm^2)，L は最大伸び ($\Delta l/l_0$) である。本式も，上述のゲル強度と本質的には同じ性質の量をとり扱つていることが分る。ただし，そこに与えられた係数が少数の判定人の主観的判定結果からひき出されたものであり，これに特別の意味をもたせることの意義は大きくないと考えられるので，上述のように定義したゲル強度をかまぼこの強さの指標として用いることにする。

実際に引張り試験を行なうばあい，試料誤差を考慮し，同一試料について 3~5 回の測定を行ない，その平均値によつてゲル強度を決定する。

実験結果および考察

“足の質”，“やわらかさ”，“足の強さ”，“歯ぎれのよさ”についてパネルが与えた順位の合計ならびに引張り試験によつて得たゲル強度の値は Table 1 のとおりである。Ranking test において，パネルを構成する各判定人が試料に与えた順位の一致の度合をみるために，Wendall の一致性の係数 $W^{3)}$ を計算し，これを Friedman の方法で検定したところ，彼等の判定結果はここにとりあげた項目のすべてにおいてひじようによい一致を示している。これは，このパネルを構成する 6 名の判定人の間で各要因に対する判定規準に混乱がなく，しかも彼等がこの種の食品の品質鑑定にかなり熟練していることを示すものと思われる。

Table 1. Results of ranking tests for quality of “ashi” and the three components.

Expt.	Sample	Judges' score for: quality of “ashi” Score[1)]	Rank	softness Score[1)]	Rank	shortness and crispness Score[1)]	Rank	“toughness” Score[1)]	Rank	Gel-strength[3)] $10^2 \cdot g \cdot cm$	Rank
I	1	19	4	29	5	22	4	16	2	19	2
	2	29	5	26	4	24	5	24	5	17	3
	3	17	3	10	1	20	3	22	4	16	4
	4	11	1	12	2	8	1	20	3	9	5
	5	39	6.5	22	3	38	6	40	7	8	6
	6	14	2	38	7	17	2	9	1	28	1
	7	39	6.5	31	6	39	7	37	6	7	7
	$W^{2)}$	0.817**		0.613**		0.741**		0.728**			
II	1	10	2	39	7	9	1	7	1	18	1
	2	35	6	15	2	34	6.5	35	6	10	6
	3	29	4	28	5	24	4	22	3	11	4.5
	4	8	1	23	4	11	2	11	2	15	2
	5	19	3	22	3	18	3	23	4	11	4.5
	6	31	5	32	6	32	5	32	5	12	3
	7	36	7	9	1	37	6.5	38	7	9	7
	$W^{2)}$	0.811**		0.611**		0.825**		0.837**			

1) Scores are sum of ranks judged by 6 judges pannel.
2) Coefficient of concordance among judges. ** Significant at 1% level.
3) Values are products of the tensile strength (g) and the maximum elongation (cm) of kamaboko strip as shown in Fig. 1.

パネルが各試料に与えた順位合計の値から各要因別の判定順位を決定し，要因間の順位相関係数 r_s を求めると，Table 2 の値を得た。"足の強さ" および "歯ぎれのよさ" はいずれも "足の質" と強い相関関係にあるが，その有意性から考えると "足のよしあし" の評価に対して "歯ぎれ" の要素は "足の強さ" の要素よりもむしろ強く影響するといえよう。さきの三宅ら[1] の指摘を確認するものである。すなわち，"よい足" の条件は "強い足" だけではなくて，これにさらに "歯ぎれのよい" ことが必要である。しかし，"足の強さ" と "歯ぎれのよさ" がまつたく独立的な食感とはいえないことは，両者の間の相関係数が高い有意性を示すことから明らかであろう。いつぽう，製品の "やわらかさ" は足の質の評価にあまり影響がないようにみえるが，このことは，さきに著者ら[1] によつて製品の地方色として指摘されている。

Table 2. Rank correlation coefficient, r_s between various factors of "ashi".

		Quality of "ashi" vs. "Softness"	Quality of "ashi" vs. "Shortness and crispness"	Quality of "ashi" vs. "Toughness"	"Shrotness and crispness" vs. "Toughness"	"Toughness" vs. Gel strength
r_s	Expt. I	0.205	0.991**	0.812*	0.787*	0.821*
	Expt. II	−0.571	0.955**	0.929**	0.955**	0.884*

* Significant at 5% level.
** Significant at 1% level.

主観的測定による "足の強さ" と客観的測定によつて求めたゲル強度の順位の間にみられる一致性は2回試験においていずれも5% 以下の危険率で有意であることを示しており，著者らが定義したゲル強度をもつてかまぼこの "足の強さ" を表示するに充分な根拠を与えるものと考えられるが，以下に述べる実験で，さらに多数の試料についてその妥当性を確かめることにする。

実　験　2.

実験方法

試料: 昭和 34 年秋，仙台市で行なわれた第12回全国かまぼこ品評会出品物の中から選んだ 30 種のかまぼこ。

試験の方法: 試料の "足の強さ" を 1~5 点の評点法 (scoring test) によつて官能的に評価するとともに，実験 1. で述べた方法でゲル強度を測定し，両者の間の関係を検定した。官能試験に用いたパネルは実験 1. に用いたと同じであり，scoring に用いた採点基準は Table 3 のとおりである。ここで "普通" という等級は，全国各種かまぼこのうち中等程度（平均）の "足の強さ" をもつてするようにパネルに指定したが，その基準は判定人の経験と主観によつて多少異なるのはやむを得ない，試料の大きさは実験 1. におけると同様であり，試料の提出順序は Table 4 の試料番号の順であつて無作意にきめてある。

Table 3. Adjectives used in scoring "toughness" and associated weightings.

Weighting of adjectives	5	4	3	2	1
Adjectives used in scoring	ひじように強い very tough	強　い tough	普　通 moderately tough	弱　い fraile	ひじように弱い very fraile

Table 4. Comparison between subjective and objective evaluation for "toughness" of kamaboko.

Sample			Subjective evaluation		Objective evaluation			
No.	Locality	Style	Total score[1)]	Grade[2)]	Tensile strength ($10^2 \cdot g$)	Max. elongation (cm)	Gel strength[3)] ($10^2 \cdot g \cdot cm$)	Rank
1	Nanao	Boiled	24	B	4.6	5.9	27	3
2	Kyushu	Broiled	26	A	3.3	6.8	22	10.5
3	Miyazu	Steamed	23	B	3.5	6.2	22	10.5
4	Kōriyama	Steamed and broiled	18	C	2.9	5.1	15	21.5
5	〃	Steamed	26	A	4.3	5.6	24	9
6	Miyazu	〃	23	B	3.4	5.5	19	15
7	Kesenuma	〃	13	D	3.1	5.9	18	17.5
8	Eyoton	Steamed and bloiled	21	B	2.8	4.6	13	24
9	Wakayama	Steamed	16	C	2.9	5.1	15	22
10	Miyagi	Steamed and broiled	23	B	>2.2	>7.5	>16	12
11	Osaka	〃	16	C	1.6	4.1	7	29.5
12	Niigata	〃	18	C	2.5	6.8	17	19
13	〃	〃	18	C	3.0	6.6	20	13
14	Okayama	〃	6	D	2.6	2.8	7	30
15	Aomori	Broiled	25	A	5.7	6.5	26	4
16	Turuga	Steamed and broiled	24	B	4.1	6.2	25	6.5
17	Kyoto	Steamed	11	D	2.4	4.3	10	25.5
18	Sizuoka	〃	28	A	>3.5	>7.5	>26	1
19	Odawara	〃	26	A	4.7	6.4	30	2
20	Hukuoka	〃	18	C	2.2	7.3	16	20
21	Odawara	〃	22	B	4.0	6.3	25	6.5
22	Sizuoka	〃	22	B	4.4	5.6	25	6.5
23	Himeji	Steamed and broiled	22	B	3.1	6.2	19	15
24	Hokuriku	Steamed	15	C	4.5	5.6	25	6.5
25	Wakayama	Steamed and broiled	14	D	2.4	3.2	8	27.5
26	Odawara	Steamed	20	B	3.4	5.5	19	15
27	Tyūgoku	〃	15	C	3.6	3.8	14	23
28	Kyoto	〃	13	D	2.2	4.4	10	25.5
29	Nagoya	〃	16	C	3.0	6.0	18	17.5
30	Himeji	Steamed and broiled	17	C	2.5	3.0	8	27.5

1) Values are sum of scores judged by 6 judges pannel.
2) Samples scored >25, 24–20, 19–15 and <14 are graded A, B, C and D, respectively.
3) Values are products of the tensile-strength and the maximum elongation of kamaboko strip as shown in Fig. 2.

実験結果ならびに考察

"足の強さ" の主観的ならびに客観的測定結果は Table 4 のとおりである。両者の間の関係をみるために全試料を主観的測定結果については評点合計に応じて A (評点 25 以上), B (評点 24～20), C (評点 19～15) および D (評点 14 以下) の 4 階級に分類し，客観的測定結果についてはゲル強度の大きさの順に 1～30 までの順位をつけた。ただし，ゲル強度の等しいものは順位の平均値を用い，同順位とした。主観的にランクされた A ,B, C, D の各階級に含まれる試料のゲル強度の順位は Table 5 のようになる。

Table 5. Ranks of gel-strength corresponding to the subjective grade of "toughness".

Grade of toughness	Ranks of gel-strength
A	1, 2, 4, 9, 10.5
B	3, 6.5, 6.5, 6.5, 10.5, 12, 15, 15, 15, 24
C	6.5, 13, 17.5, 19, 20, 21.5, 21.5, 23, 27.5, 29.5
D	17.5, 25.5, 25.5, 27.5, 29.5

いま，各級に属する試料のゲル強度の順位が，ランダムであると仮定したばあいに較べて，どの程度の偏りがあるかを検定するために Kruskal-Wallis の

H 検定[4]を行なうと,

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i}^{c} \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1) = 17.32$$

となる。ここに，c = 試料の組の数，n_i = 各組の試料数，R_i = 各組の試料についての順位合計，$N = \sum n_i$ である。ここで，同順位を扱つたために H を補正すると

$$H_0 = 17.39.$$

いつぽう，自由度3の χ^2 分布の 1% 点は

$$\chi_3^2(0.01) = 11.34$$

であるから

$$\chi_3^2(0.01) < H_0 \ .$$

すなわち，官能的に分類された4つの区分によつて，それに属する試料のゲル強度の大きさは明らかに異るのである。しかし，個々の試料について検討してみると，なかには階級と順位の間に多少のずれが認められる。たとえば，試料 (8)，(11)，(24)，(30) などで，これは官能試験が多量の試料を割合短時間に扱つたために生じた誤差もあるが，試料中にふくまれる澱粉量の多少が判定人の正確な判断を妨害していることにもよるのであろう。

A, B, C, D の各級に属する試料のゲル強度の平均はそれぞれ 26, 21, 16, 11 であり，全試料平均は 18 である。官能検査に用いた採点規準からいつても 16～21 程度のゲル強度を全国平均と考えてもよいわけであるが，ここに試験に供したかまぼこはすべて出品物であり全般的に品質が良いために，採点規準もそれだけからくなつていると思われるから，一応C級程度のものを市販品の標準と考えて差支えないと考える。

実験 1, 2 の結果からみて，“足の質” をきめる要素のうち，すくなくとも “足の強弱” は客観的な測定が可能であつて，有力な他の要素である “歯ぎれ” についても測定手段を確立することによつて，この種食品の品質の数量的取扱いが可能になるであろう。

本研究に対して有益な意見をよせられた阪大工学部池田潤平講師，日本合成ゴム株式会社二宮和彦氏ならびに試料のしゆう集と実験に協力された吉野耕司氏に厚くお礼を申し述べる。

要　　約

（1） かまぼこの食感のいろいろな要素のうち，“歯ぎれ” ならびに “足の強さ” の要素は，ともに “足の質” の評価と密接な関係にあるが，“硬さ，やわらかさ” は “足のよしあし” にあまり関係がない。

（2） ねり製品の機械的強度の指標として “ゲル強度” (引張り試験における引張り強度と最大伸びの積) を定義した。

（3） かまぼこの “足の強さ” はゲル強度によつて客観的に表示することができる。

文　　献

1) 三宅正人・堀口吉重・林孝市郎： 本誌, **21**, 1241 (1956).
2) 志水　寛・清水　亘： 本誌, **19**, 596 (1954).
3) たとえば　吉川誠次： 化学の領域, 増刊 **36** 号, 96 (1959).
4) たとえば　吉川誠次： 化学の領域, 増刊 **36** 号, 84 (1959).

軟体動物燐脂質*

座間宏一・羽田野六男・五十嵐久尚

(1960 年 6 月 28 日受理)

PHOSPHATIDES OF MOLLUSCA

Kôichi Zama, Mutsuo Hatano and Hisanao Igarashi**

The lecithin and cephalin fractions were obtained from a chlamys, *Chlamys nippoensis*, a pecten, *Pecten yesoensis*, an octopus, *Octopus dofleini*, and a squid, *Ommastrephes sloani pacificus*.

The lecithin of chlamys, pecten, octopus and squid proved to contain respectively, P 3.99, 4.03, 3.56, 3.75%; N 1.85, 1.80, 1.75, 1.71%; choline 14.62, 13.24, 15.00, 14.45%; glycerol 11.25, 11.61, 11.66, 11.49%; iodine no. 96.3, 109.2, 57.1, 107.9.

The cephalin of these mollusca contained respectively, P 4.05, 4.02, 3.30, 3.62%; N 1.72, 1.62, 1.71, 1.91%; ethanolamine 5.65, 5.82, 6.20, 6.58%; serine 3.18, 2.36, 1.34, 2.51%; glycerol 11.34, 10.32, 10.04, 10.92%; iodine no. 75.4, 60.8, —, 105.0.

Inositol was found in the cephalin of chlamys and pecten, but not in that of octopus and squid.

イカ，タコ等の軟体動物の燐脂質については僅かに北林ら[1]のイカ肉燐脂質に関する報告がみられるだけであるが，貝類臓器のエーテル抽出物中アセトン不溶性のいわゆる燐脂質と考えられる物質の存在していることはしばしば辻本，外山，土屋らによつて報告されていたが，そのものの性状に関しては検討されていなかつた。

最近にいたり堀によりセタシジミ[2]，カラスガイ[3]の燐脂質に関する報告がなされている。

著者らは先に鯨類の脳[4]および心臓[5]，魚類の脳[6]，心臓[7]，卵[8]および筋肉[9]，甲殻類であるタラバガニ卵[10]の燐脂質を分離しその性状を明らかにしたが，本報では軟体動物であるアカザラガイ，ホタテガイ，ミズタコ，スルメイカ等の臓器および筋肉より分離したレシチンおよびケファリンの性状について述べる。

実験および結果

試料: アカザラガイ，*Chlamys nippoensis*・・・・1957 年 3 月北海道函館近郊海岸で採取した 250 個体より得たむきみ，4920g.

ホタテガイ，*Pecten yesoensis*・・・・1957 年 7 月北海道常呂海岸で採捕した 402 個体より得た肝臓，3005g.

ミズタコ，*Octopus dofleini*・・・・1955 年 12 月北海道釧路にて入手した肝臓，7300g.

スルメイカ，*Ommastrephes sloani pacificus*・・・・1957 年 11 月北海道函館にて入手したもの，外套膜筋肉，4500g.

分析法: P は Fiske-Subbarow 法，N は Micro Kjeldahl 法，コリンは Beattie 法[11]，グリセリンは Blix 法[12]，セリンおよびエタノールアミンは Nojima 法[13]により測定。イノシットは Scherer 反応により定性的に検討した。また沃素価は Wijs 法によつて測定した。

* 水産動物燐脂質に関する研究　第 23 報 (Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals-XXIII).
** 北海道大学水産学部水産化学教室 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate).

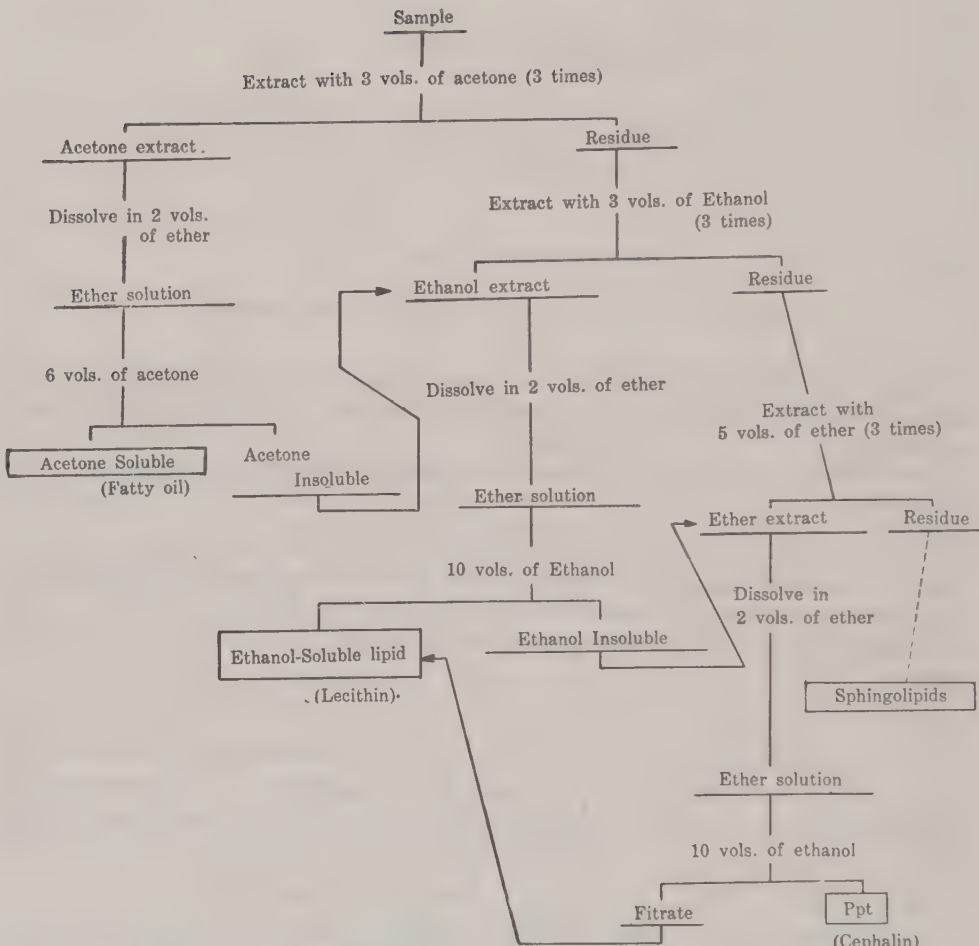


Fig. 1. Extraction and Fractionation of Conjugated Lipids.

脂質の抽出および分別: 試料調製にあたり抽出液の濃縮，溶剤除去等の操作は全て CO_2 気流中，減圧下で行つた。試料の処理は概略 Fig. 1 に示すごとくして行つた。試料をアセトンと粉砕後，アセトン抽出を繰返し行い，アセトン抽出物と残渣に分け，後者はさらに順次エタノール，エーテル，熱エタノールで抽出，それぞれエタノール，エーテルおよび熱エタノール可溶画分を得た。

アセトン抽出物より溶剤を溜去，得た残留物を2倍容のエーテルに溶解，その6倍容のアセトン中に注入，氷室に保ちアセトン可溶性脂質と不溶物に分けた。アセトン可溶性脂質については別報に述べる。アセトン不溶部はエタノール可溶画分に合し，エタノール溜去後，残留物を2倍容のエーテルに溶解，その10倍容のエタノールに注入，氷室に保ちエタノール可溶画分と不溶画分に分別した。この際得られた不溶画分はエーテル可溶画分に合する。エーテル可溶画分はエーテル溜去後，再びエーテル溶解，その10倍容のエタノールに注入，不溶性のケファリン画分を得た。熱エタノール抽出物はスフィンゴ脂質原料とした。

レシチン: 前のごとくして得られたエタノール可溶画分に $CdCl_2$ 飽和エタノール溶液を最早沈澱の生じなくなるまで加え，一夜氷室に放置後レシチン $CdCl_2$ 複塩の沈澱を20倍容のクロロホルムに溶解，等容の30% エタノールと振盪を繰返えすことにより脱 $CdCl_2$ し，クロロホルム層より粗レシチンを得た。これをエタノールに溶解 3% 濃度としアルミナ・カラム（メルク製アルミナ，400°C，2時間活性化，粗レシチン

Table 1. Properties of Lecithins.

Lecithins from	Chlamys (shell free)	Pecten (liver)	Octopus (liver)	Squid (muscle)
Yield g/kg	0.8	1.8	0.15	1.8
P %	3.99	4.03	3.56	3.75
N %	1.85	1.80	1.75	1.71
Choline %	14.62	13.24	15.00	14.45
Glycerol %	11.25	11.61	11.66	11.49
N/P	1.02	0.99	1.09	1.00
Choline/P	0.94	0.94	1.08	0.98
Glycerol/P	0.95	0.94	1.01	1.01
Iod. no.	96.3	109.2	57.1	107.9

Table 2. Properties of Cephalins.

Cephalins from	Chlamys (shell free)	Pecten (liver)	Octopus (liver)	Squid (muscle)
Yield g/kg	0.7	0.3	0.07	0.22
P %	4.05	4.02	3.30	3.62
N %	1.72	1.62	1.71	1.91
Ethanolamine %	5.65	5.82	6.20	6.58
Serine %	3.18	2.36	1.34	2.51
Glycerol %	11.34	10.32	10.04	10.92
Inositol	+	+	—	—
N/P	0.94	0.86	1.14	1.16
Ethanolamine/P	0.71	0.73	0.96	0.91
Serine/P	0.23	0.17	0.11	0.20
Glycerol/P	0.95	0.86	1.02	1.01
Iod. no.	75.4	60.8	—	105.0

1g 当り 10g のアルミナを用いる）を通過し 95% エタノールで溶出，精製レシチンを得た。この結果は Table 1 に示す通りである。

ケファリン: 前記エーテル可溶，エタノール不溶画分より得られた各ケファリン部をそれぞれクロロホルムーメタノール (2: 1) に溶解，Folch の washing[14] を2回行つた後に溶剤を溜去し，残留物を2倍容のエーテルに溶解，その 10 倍容のエタノールに注入する操作を計3回，さらにエーテル，アセトンによる精製を3回繰返して得られたケファリンの性状は Table 2 に示す通りである。

レシチンおよびケファリンの脂肪酸: レシチンおよびケファリン画分をそれぞれ 2N KOH エタノール溶液と1時間還流して加水分解，脂肪酸を得たが何れもその量少きため Herb-Riemenschneider 法[15] にしたがい，21% KOH エチレングリコール中で 180°C, 15 分間共役化し，そのメタノール溶液の 374, 346, 315, 268 および 233mμ における比吸光係数を求め，Hammond-Lundberg の式[16]によりペンタエン酸を C_{22} として算出し Table 3 に示す結果を得た。

Table 3. Fatty acid composition of lecithins and cephalins.

Fatty acid from	Chlamys (shell free)		Pecten (liver)		Octopus (liver)	Squid (muscle)	
	Lec.	Cep.	Lec.	Cep.	Lec.	Lec.	Cep.
Neutr. no.	197.0	198.2	199.3	198.8	198.2	197.0	197.6
Iod. no.	110.6	80.6	110.4	64.5	105.3	135.8	141.4
Saturated	12.1	55.3	6.7	58.6	20.8	19.0	4.8
Monoethylenic	69.9	16.0	80.7	19.5	61.6	42.2	59.3
Dienoic	1.4	4.5	2.0	3.7	7.0	20.9	19.5
Trienoic	2.8	3.1	1.8	2.3	2.6	10.2	8.2
Tetraenoic	4.1	3.9	3.4	3.6	3.4	4.8	3.9
Pentaenoic	7.0	10.8	3.2	8.5	3.2	2.5	3.3
Hexaenoic	2.7	6.4	2.2	3.8	1.4	1.4	1.0

考　察

著者らは海水産貝類の燐脂質について検索を行つたがレシチン，ケファリンともにその収量は少なかつた。レシチンの性状については Table 1 に示したように P 含量，コリン含量に多少の差異が認められる。沃素価はそれぞれのアセトン可溶性脂質の沃素価（アカザラガイむきみ 203.2; ホタテガイ肝臓 226.5; ミズ

タコ肝臓 203.2; スルメイカ筋肉 174.5) に比して著るしく低い。このことはケファリンについても認められる事実であり，その構成脂肪酸組成もアセトン可溶性脂質のそれと異つていると考えられる。これらのことはグリセロ燐脂質が生体内組成の構成要素として重要であるということと考え合せ興味がもたれる。

レシチンの脂肪酸組成はアルカリ溶液中で共役化し，分光分析を行い，HAMMOND-LUNDBERG の式によつて算出した。この方法については未だ検討すべき点は多々あると考えられるが，この結果よりみると一般にモノエチレン酸含量が多く，特にミズタコ，ホタテガイ肝臓，アカザラガイむきみレシチン構成脂肪酸の半ば以上がモノエチレン酸によつて占められている。

ケファリンについてもレシチン同様，動物によりその性状の差異が認められた。すなわち貝類ケファリン加水分解物中にエタノールアミン，セリンおよびイノシットの存在が認められたのにもかかわらず，ミズタコ肝臓，スルメイカ筋肉より得られたものでは，イノシットの存在を認めなかつた。しかし，数種の動物肝臓[17)18)19)] より inositol lipid が得られており，今回また貝類の肝臓に inositol lipid の存在が推定された。これらのことよりミズタコ肝臓ケファリン画分に inositol lipid が存在しないとは断定できない。この点何れ機会をみて再検討したいと考える。

ケファリン構成脂肪酸はミズタコ肝臓ケファリンではその量が少かつたため検討し得なかつたが，スルメイカ筋肉および貝類より得たものについて分光分析を行つた。その結果スルメイカ筋肉ケファリンではモノエチレン酸が半ば以上占め，貝類より得たものでは飽和酸が半ば以上を占めているという興味ある事実を見出した。

ホタテガイ肝臓採取するに当り御援助を賜わつた北水試・田中正午，猪川喜久男両氏，ミズタコ肝臓を御贈与下さつた小樽市・能島正一氏に厚く謝意を表します。

本研究の一部は文部省科学研究費で行つた。

文　　献

1) 北林邦次・首藤勝夫: 北水研報告, **11**, 151 (1954).
2) HORI, T.: *Memoirs of Fac. of Liberal Arts and Education, Shiga Univ.*, **5**, 111 (1956).
3) 堀　太郎: 油脂討論会, (名古屋, 1959, 11 月).
4) 座間宏一・五十嵐久尚: 農化, **29**, 958 (1955); **30**, 435 (1956); **31**, 582 (1957); **33**, 333, 335 (1959).
5) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男: 農化, **30**, 111, 116 (1956).
6) 座間宏一・五十嵐久尚: 農化, **29**, 961 (1955); **30**, 433 (1956).
7) 座間宏一・五十嵐久尚: 日本水産学会秋季大会 (新潟, 昭 33).
8) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男: 農化, **29**, 454 (1955); **30**, 565, 567 (1956); 本誌, **24**, 739 (1959).
9) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男: 本誌, **23**, 273, 278 (1957); **24**, 735 (1959).
10) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男: 農化, **31**, 4, 8 (1957).
11) JANE, F., BEATTIE, R.: *Biochem. J.*, **30**, 1554 (1936).
12) BLIX, G.: *Mikrochim. Acta*, **1**, 75 (1936).
13) NOJIMA, S., UTSUGI, N.: *J. Biochem.*, **44**, 565 (1957).
14) FOLCH, J., ASCOLI, I., LEES, M., MEATH, J.A., LE BARON, F.N.: *J. Biol. Chem.*, **191**, 833 (1951).
15) HERB, S.F., RIEMENSCHNEIDER, R.W.: *Anal. Chem.*, **25**, 953 (1953).
16) HAMMOND, E.G., LUNDBERG, W.O.: *J.A.O.C.S.*, **30**, 433 (1953).
17) MCPHERSON, M.G., LUCAS, C.C.: *Feder. Proc.*, **6**, 273 (1947).
18) TAYLOR, W.E., MCKIBBIN, J.M.: *J. Biol. Chem.*, **201**, 609 (1953).
19) HAWTHORN, J.N., HÜBSCHER, G.: *Biochem. J.*, **64**, 539 (1956).

水産調味食品の研究—I.*

佃煮製品の味について

野村善彦・藤田真夫・清水 亘

(1960 年 6 月 29 日受理)

STUDIES ON SEASONING OF MARINE PRODUCTS—I. ON THE TASTE OF *TUKUDANI*

Yosihiko NOMURA, MASAO HUJITA and Wataru SIMIDU**

Many kinds of *tukudani*, a marine product seasoned with soya, sugar and various stimuli, were determined on moisture, sugar, the refractometer reading, common salt, total and water soluble nitrogens and pH value. The result is shown in the table. As the principal components responsible to flavor of *tukudani* were looked upon to be sweet and saline matter, it seems that attention must be paid not only on each amount of them but also on the ratio of total sugar to NaCl, when discussing the flavor of *tukudani*.

佃煮は多量の調味料によつて濃厚に調味せられる。したがつてその調味料の種類，使用量，および配合割合が製品の品質に大きい影響を与えるので，合理的な調味方法を確立することは，佃煮の品質を改良するために重要である。佃煮の調味方法については 1934 年，清水・白石・新村[1] が報告しているが，その後佃煮は種類も多くなり，その味の傾向も変つてきているので，その調味規準をみつけるために，市販佃煮の呈味成分を分析した。

試料および実験方法

1. 試料： 昭和 34 年 10 月，京都市で開催された水産加工食品展示会の品評会に出品された佃煮のなかから代表的なものを選んで試料とした。

2. 分析方法： 糖分は BERTRAND 法，食塩は MOHR 法，全窒素および水溶性窒素は KJELDAHL 法，pH は堀場製 pH メーター，糖度は東光製屈折糖度計によつて測定した。

実験結果および考察

各種佃煮製品について水分，全糖および糖度，蔗糖，還元糖，食塩，全窒素，水溶性窒素および pH を測定し，その結果を "から口" のものから "甘口" の順に Table 1 に示した。

一般に佃煮の味は，原料のもつ味のほかに調味料による味，とくに醤油の塩味，砂糖あるいは水飴の甘味が残りの大部分を占めている。佃煮製品のうちで角切コンブがもつともから口であつて No. 309 (塩ふきコンブ) を除いて，食塩含量は 14% 前後，全糖は 6% 前後で，食塩 1 に対し全糖はわずかに 0.4 にすぎない。このうちで No. 23 の全糖は 10% で食塩の 0.74 倍であるが，味は甘口であつてつぎの細切コンブの味に似ている。細切コンブは角切コンブに比べて価格も安いので，品質もやや劣り，人工甘味料を使用したものが多く，人工甘味料を使用していない No. 89 にしても，砂糖より水飴の使用が多い。細切コンブの味は食塩 1 に対し全糖 0.7～0.8 で No. 23 を除くその他の角切コンブよりやや甘口である。のり佃煮は 1934

* 昭和 35 年 4 月 4 日，日本水産学会にて講演。

** 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

Table 1. Analysis of *tukudani* with reference to taste, arranged in order from saltiness to sweetness.

Group	Sample	Number	Locality (Japanese name)	Moisture %	Total sugar %	Reducing sugar %	Cane sugar %	NaCl %	Total N %	Water soluble N %	pH	Sugar refractometer %	Total sugar / NaCl
(1)	角切コンブ	309	京　都 Kyoto	17.9	2.94	0.84	2.10	26.2	1.58	1.24	5.40	——	0.11
	〃	332	〃　〃	17.8	5.46	2.28	3.18	14.4	2.08	1.70	5.21	——	0.38
	〃	333	〃　〃	24.6	5.84	3.29	2.55	14.9	1.29	1.11	5.21	54.0	0.39
	〃	39	香　川 Kagawa	27.6	4.85	1.31	3.54	11.7	1.07	0.84	5.48	39.0	0.41
	〃	329	京　都 Kyoto	49.2	8.69	4.54	4.15	15.8	1.30	1.16	5.10	55.0	0.55
	〃	23	兵　庫 Hyogo	45.7	10.14	2.47	7.67	13.8	0.85	0.77	5.20	61.0	0.74
(2)	細切コンブ	165	大　阪 Osaka	56.6	(+)	(?)	(+)	16.5	1.69	1.38	5.70	45.0	*
	〃	227	東　京 Tokyo	51.5	(+)	(?)	(+)	15.9	1.88	1.62	5.70	51.0	*
	〃	259	京　都 Kyoto	51.7	(+)	(?)	(+)	15.8	1.92	1.62	5.65	51.0	*
	〃	297	〃　〃	49.5	1.12	1.07	0.05	15.5	2.20	1.63	5.71	52.5	*
	〃	89	静　岡 Sizuoka	45.0	9.72	7.84	1.88	11.8	1.31	1.04	5.64	58.0	0.82
(3)	ノリ佃煮	240	——	57.1	7.94	4.22	3.72	15.0	1.44	1.28	5.20	49.0	0.53
	〃	239	——	54.1	10.08	8.21	1.87	14.7	1.24	1.02	5.22	53.0	0.69
	〃	245	三　重 Mie	52.6	19.25	1.96	17.29	14.8	1.37	1.14	5.88	54.5	1.31
(4)	アサリ佃煮	180	大　阪 Osaka	31.8	14.58	1.29	12.29	12.4	6.20	0.87	6.32	60.0	1.18
	〃	220	横　浜 Yokohama	39.5	12.64	6.36	6.28	9.8	4.00	1.24	6.00	57.0	1.29
	〃	2	千　葉 Tiba	23.6	19.97	9.30	10.67	7.6	5.15	1.00	6.01	59.0	2.65
(5)	カツオ角煮	66	静　岡 Sizuoka	65.4	23.46	5.56	17.90	9.7	4.78	1.07	6.30	55.2	2.35
	クジラ大和煮	105	大　阪 Osaka	52.4	12.16	1.92	10.24	5.3	4.88	0.85	6.08	35.2	2.28
	サンマ大和煮	69	静　岡 Sizuoka	33.2	22.85	5.95	16.90	6.6	4.00	0.77	6.17	49.5	3.48
(6)	小アユ	167	大　阪 Osaka	32.6	14.55	11.15	3.40	10.9	2.78	0.96	6.12	35.0	1.33*
	〃	232	滋　賀 Siga	23.8	20.31	17.30	3.01	5.6	4.87	0.89	6.18	37.5	3.61*
	小フナ	32	京　都 Kyoto	37.1	16.95	8.64	8.31	8.7	3.99	1.44	6.52	55.0	1.94
	〃	235	〃　〃	28.4	27.65	15.65	12.00	8.6	3.53	1.22	5.61	75.0	3.22*
	ハゼ	1	石　川 Isikawa	27.6	41.10	15.31	25.79	5.2	2.62	0.46	5.70	77.0	7.95
	〃	190	島　根 Sinane	31.8	22.85	14.54	8.31	5.7	3.38	0.90	5.41	70.0	3.95

(7)	でんぶ	157	大阪 Osaka	31.6	22.98	6.17	16.81	8.9	4.70	1.42	5.98	30.0	2.59
	〃	196	富山 Toyama	18.5	52.70	0.88	51.82	11.6	6.67	0.86	6.35	25.5	4.42
(8)	ちりめんしらす	124	滋賀 Siga	32.0	27.60	14.17	13.43	9.8	3.67	1.10	6.65	70.0	2.80
	〃	150	大阪 Osaka	30.7	27.55	11.50	16.05	6.4	4.90	0.53	6.60	57.5	4.31
	コウナゴ	204	——	26.2	23.24	18.80	4.44	6.3	3.96	0.74	6.21	66.5	3.68
	〃	294	京都 Kyoto	27.1	25.05	12.66	12.39	9.1	3.88	0.83	6.42	64.0	2.75
(9)	小ダイ	277	〃 〃	23.1	30.90	8.64	22.26	6.4	4.77	0.55	6.50	59.5	4.80
	小アジ	22	神戸 Kobe	23.5	32.18	17.62	14.56	5.2	4.07	0.54	6.80	70.5	6.19
(10)	小エビ	63	広島 Hirosima	25.4	29.25	17.09	12.16	7.0	2.38	1.08	8.96	44.0	4.15*
	〃	222	千葉 Tiba	33.5	27.72	14.79	12.93	4.9	3.20	0.72	9.00	40.0	5.67*
	大エビ	212	石川 Isikawa	32.0	32.80	6.30	26.50	5.5	3.52	0.70	9.11	35.0	5.93*
(11)	切するめ	16	兵庫 Hyogo	27.5	31.70	17.59	14.11	4.6	4.62	1.42	6.59	75.0	6.85
	イカあられ	15	〃 〃	25.8	35.65	16.90	18.75	4.2	4.65	1.18	6.60	74.0	8.46
	〃	9	〃 〃	25.3	33.80	22.15	11.65	3.5	4.77	1.38	6.60	74.0	9.63
	イカ松葉煮	214	福岡 Hukuoka	25.4	46.61	8.86	37.75	4.5	4.00	0.81	6.55	72.0	10.3
	〃	113	大阪 Osaka	19.7	49.40	17.22	32.18	3.3	3.68	0.74	6.50	76.0	15.0
	イカ東煮	27	兵庫 Hyogo	22.7	50.30	3.59	46.71	1.9	5.08	0.73	6.60	65.0	26.5
(12)	さくらでんぶ	74	尼崎 Amagasaki	14.9	59.45	2.34	57.11	4.7	2.68	0.26	6.55	45.0	12.7
	〃	234	宇都宮 Utunomiya	6.7	72.25	3.48	68.77	2.0	2.23	0.33	7.12	50.5	36.5

* Contains artifical sweet matter. (+) Trace.

(1) *Tangle* cut square and cooked well to dryness with a large amount of soya or soya and a small amount of sugar.
(2) *Tangle* cut in fine band and cooked with soya and sugar or artificial sweet matter.
(3) *Tukudani* of *Laver*.
(4) *Tukudani* of *short-necked clam*.
(5) Meat cooked unsufficiently: No. 66, *Oceanic bonito*; No. 105, *Whale*; and No. 69, *saury-pike*.
(6) *Tukudani* of small fish: No. 167, *Ayu*; No. 32, *Gibel*; and No. 1, *Goby*.
(7) Fish pulp cooked to dryness with seasonings.
(8) *Tukudani* of young or very small fish: No. 124, *Sirasu*, postlarvae of sordine and others.; and No. 204, *Sand eel*.
(9) *Tukudani* of small fish seasoned somewhat sweet: No. 277, *Sea bream*; and No. 22, *Horse-mackerel*.
(10) *Tukudani* of *shrimp*.
(11) Dried squid cut in pieces and cooled with soya, sugar and *ame* (starch-syrup saccharificated with malt or chemicals).
(12) Fish pulp seasoned with a large amount of sugar and a small amount of salt.

年の清水らの結果[1]によれば，調味液に醤油のみを使用し，砂糖はきわめて少なく，現在の角切コンブ程度であつた。これに比べると最近は甘口になり，食塩 15% に対し全糖は 0.6～1.3 倍である。貝類佃煮は前記1934年の結果[1] とほぼ同じで，甘口のもので食塩 7.6%，全糖はその 2.7 倍，から口のもので食塩 12.4%，全糖はその 1.2 倍である。大和煮も 1934 年の結果[1] と同じく，食塩 9.5% に対し全糖がその 2.3 倍のものが大和煮の味を代表していると思われる。小魚類佃煮では，No. 32 が食塩 8.7%，全糖はその 2 倍で在来の佃煮の味を表わしているが，他は食塩も少なく，全糖はその 4 倍であつて，ひじように甘味が強い。全糖が食塩の 8 倍に達するものさえあり，これはもちろん甘すぎる。近年佃煮には，乾燥原料を濃厚な調味料のなかで攪拌するにすぎないような製品が多いが，このような製品では，食塩を少なく，糖分を多く用いて味の不足をごまかしているものが多い。分析に用いたちりめんしらす，コウナゴ，小ダイ，小アジはいずれも乾燥原料を用いたもので，食塩 5～6% に対し全糖は 3～6 倍であつた。でんぶも同じく乾燥原料を用い，品質もあまりよいものではなく，食塩 10% 前後に対し全糖は 2.6～4.4 倍で甘味が強い。

エビ類佃煮も乾燥原料を用いており，食塩 5～7% に対し全糖は 30% 前後も含まれている。製品の pH は 9.0 を示し，食品としてはまつたく不当に高い pH であつて，使用した原料の鮮度がひじように悪いものであると想像される。するめ製品は佃煮のうちで，もつとも甘口で，No. 2 を除いて食塩 4% 前後に対し全糖は切イカで 32%，イカあられで 35%，松葉煮で 48% に達し，No. 27 の東煮では食塩 2% に対し全糖 50% で佃煮というよりは菓子である。さくらでんぶ（おぼろ）では食塩 4.7% に対し全糖 60% のものと食塩 2% に対し全糖 72% のものが分析されている。これはほとんど砂糖でできあがつていることを示す。砂糖の価格よりさくらでんぶの価格が高いので，砂糖を多量に使用するほど利益があるのかも知れないが，その使用量にも限度があるはずである。

要　　約

佃煮の調味についての規準をみつけるために品評会に出品された優良品について水分，全糖，糖度，蔗糖，還元糖，全窒素，水溶性窒素，食塩および pH を測定した。また塩味および甘味が佃煮の調味された味の大部分であるから，各種佃煮について食塩含量およびそれに対する全糖分の割合を考察した。

1. コンブおよびノリ佃煮の食塩含量は 14～16%，全糖分は角切コンブで食塩の 0.4倍，細切コンブで 0.7倍，ノリ佃煮で 0.6～1.3 倍である。貝類佃煮，大和煮，小魚佃煮の食塩含量は 7.6～12%，全糖分は食塩の 1.3～2.7 倍である。甘口のものは食塩含量も少なく（5.7%），全糖分はその 3.5～8 倍に達している。

2. 乾燥原料を使用したもの（ちりめんしらす，コウナゴ，小ダイ，小アジ，エビ類）では食塩含量は 5～10%，全糖分はその 4～6 倍で，甘味を強く調味するのが最近の傾向らしい。

3. エビの pH が 9.0 のものがあつた。これは原料の鮮度が低下していることをあらわす。

4. するめ製品はひじように甘味が強く，食塩含量は 4%，全糖はその 8～15 倍に達している。

5. 切するめ東煮は全糖分 50% を示し，砂糖をまぶしたような製品であり，さくらでんぶ（おぼろ）は全糖分 60～72% を示し，原料と砂糖との混合品であつて，佃煮というよりは魚菓子である。

本研究を行なうに当り，試料の採取に御配慮を頂いた京都府水産課および野村佃煮株式会社社長野村太三郎氏に深謝の意を表する。

文　　献

1) 清水　亘・白石友義・新村大三郎： 水産製造会誌，2，17 (1934).

乾燥による魚肉蛋白質の変性について—II. 抽出蛋白の粘度および流動複屈折の変化

右田正男・松本重一郎・鈴木たね子

(1960 年 6 月 30 日受理)

ON THE DENATURATION OF FISH MUSCLE PROTEINS BY DEHYDRATION—II. CHANGES IN VISCOSITY AND IN STREAMING BIREFRINGENCE OF EXTRACTABLE PROTEINS

Masao MIGITA, Juichiro MATSUMOTO and Taneko SUZUKI*

In the previous paper[1], it was shown that on dehydration of muscle of flatfish or squid, "Myosins"** were readily denatured —the extractability decreased—, while alubumins remained unchanged.

The question, however, was left open whether the proteins extractable after dehydration are the same as before. In order to answer it, the changes in viscosity and streaming birefringence (SB) of extractable proteins during dehydration process were followed, using thin slices of flatfish muscle as material.

Since it was found[2] that in fish "Myosins", different from rabbit "Myosins", viscosity number, ln η_r/c (η_r: relative viscosity, c: protein concentration), is not independent to c, viscosity was determined at two protein concentrations, one above and one below 0.7 mg/ml, and the result was expressed in viscosity number at concentration 0.7 mg/ml.

Each determination was carried out, using the tilting viscometer[2], at velocity gradients 200 and 500 sec^{-1}.

Streaming birefringence was compared by minimum protein concentration which gives a distinct cross of isocline under crossed Nicols.

Results. (i) Viscosity number of salt extractable proteins (L) decreased in parallel to rate of dehydration (Fig. 1, a, b). However, one cannot safely deduce from this the change in viscosity of "Myosins" in the course of dehydration, because "Myosins" content of this fraction vividly decreased on dehydration as shown in Table 2, and because in fish "Myosins" viscosity number lowers with decreasing concentration[2].

(ii) Viscosity number of Fraction S_2 prepared according to the scheme shown in Table 1, was also found to decrease with dehydration (Fig. 2, a and b). "Myosin" content of this fraction kept nearly constant up to 8 day dehydration (Tables 4 and 5). Therefore, one can safely conclude the decrease in viscosity of "Myosins" with dehydration of meat.

(iii) Streaming birefringences of "Myosins" decreased in the course of dehydration of meat (Tables 3 and 6).

It may be concluded that dehydration causes not only decrease of extractability of "Myosins", but also changes in shape of the particles, such as decrease in asymmetry.

さきにわれわれは，魚介肉の乾燥過程における蛋白の変化を肉中の可溶性蛋白の定量およびその分画定量を行うことによつて追跡し，肉の諸蛋白中脱水により最も影響をうけるのはミオシン区蛋白(ここではウサギ

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.).

** In this paper, the term "Myosins" means muscle proteins soluble in salt solution and precipitated on dilution.

東海区水産研究所業績 B 第 272 号

の場合に準じて，塩溶液にとけ，稀釈によつて沈澱する筋肉蛋白の分画を総称する）であつて，塩溶液によつて抽出される量が著しく減ずることを明らかにした[1]。しかし乾燥によつてミオシン区蛋白の受ける変化は，ただこのように塩溶液による溶出度が減るというだけであつて，ミオシン区蛋白のうち乾燥後も溶出性を失わなかつた部分は，乾燥により何の変化もうけなかつたかどうかは明らかでない。ミオシン区蛋白のように，長いセンイ状の分子からなつているものは，高い粘度と流動複屈折 (SB) を示し，分子の形や大さ，分散状態が変化すると，粘度や SB の強さにはつきりとちがいがあらわれてくる。前報においても乾燥肉蛋白の塩抽出液は SB を示さぬことをみているが，試料として塩抽出液をそのまま用いているので，SB の認められなかつたのは，ミオシン区蛋白の分子状態の変化によるものか，または，塩抽出液中のミオシン区蛋白の減少によるものか，明らかでない。そこで今回は半定量的ではあるが，鮮肉および乾燥肉から抽出したミオシン区蛋白の SB の強さを比較するとともに，粘度を測定して，乾燥肉から抽出されたミオシン区蛋白の分子状態に変化がおきているか否かをしらべた。

試料および実験方法

1) 試　料　東京中央魚市場で入手した生きているヒラメの頭をおとした後，直ちに切りとつた肉。

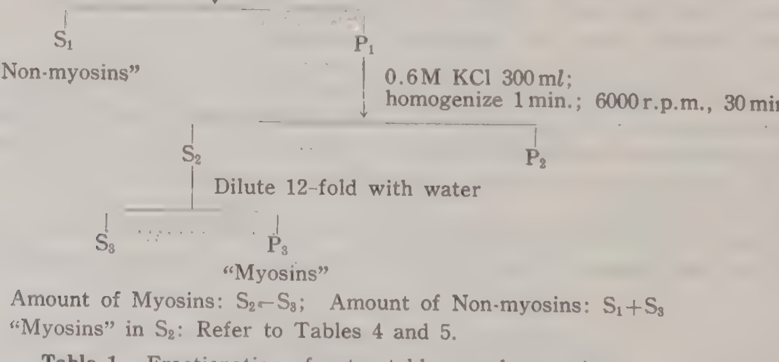
2) 脱水法　前報に準じ，ヒラメのうすい切身を P_2O_5 をいれた乾燥器中の網棚におさめ，冷所 (5〜10°C) に放置する。

3) 抽出法

a) 塩抽出液 (L)　　前報に準じ，肉を 30 倍量の冷 0.6M KCl と1分間ブレンダーにかけ，遠心分離した上澄を塩抽出液 (L) とし，これを 12 倍にうすめて沈澱したものをL中にふくまれるミオシン区蛋白 (M) とした。ただし粘度および SB 測定用のミオシン区蛋白試料は，次の方法によつて作つた。

b) ミオシン区蛋白試料 (S_2)　　Table 1 のように，肉を 0.05M KCl で抽出した残部 R_1 を 0.6M KCl で抽出してミオシン区蛋白溶液 (S_2) とした。

S_2 は大部分ミオシン区蛋白からなるものであるが，これを 12 倍にうすめてえた上澄 S_3 中にも明らかに蛋白がふくまれている。この理由は多分本来水溶性の非ミオシン蛋白も，0.05M KCl では，筋肉中から完全に抽出できないためであろう。したがつてこのうすい塩水による抽出の場合，ミオシン区蛋白 (M) の量は S_2-S_3，非ミオシン区蛋白 (N) の量は S_1+S_3 である。



Amount of Myosins: S_2-S_3;　Amount of Non-myosins: S_1+S_3
"Myosins" in S_2: Refer to Tables 4 and 5.

Table 1. Fractionation of extractable muscle proteins.

4) 粘度の測定　　ミオシンのようなセンイ状の分子の粘度は，試料溶液の濃度 (c) ばかりでなく，速度勾配 (β) によつても異るから，測定条件に左右されない値を得るためには，c および $\bar{\beta}$ を 0 に外挿したときの値をとらねばならない。ウサギミオシンの場合は $(\ln \eta_r)/c$ (η_r: 相対粘度，c: 濃度) が c に関しない事実を利用し，粘度数 $Z_\eta = (\ln \eta_r)/c$ (c: 溶液 1ml 中の蛋白の mg) を用いて，簡単に濃度の影響を

たつことができる。しかし魚のミオシン区蛋白では，$(\ln \eta_r)/c$ の値は一般に一定[2]ではないので，粘度数をとることは意味がない。c および $\bar{\beta}$ を0に外挿する方法は，測定に時間を要し，多数の実験を行うときは，その間試料溶液の変性のおそれもあるので，今回は便宜上つぎのようにして同濃度同勾配速度の下における粘度を比較した。傾斜式粘度計を用い[2] 0.5 mg/ml から 1.0 mg/ml の間に濃度2点をとり，それぞれ $\bar{\beta}=$ 200 sec^{-1} および 500 sec^{-1} で相対粘度 η_r を測定し，このせまい濃度範囲では $\ln \eta_r$ は c に大体比例するとして，$c = 0.7$ mg/ml に対する粘度数 $(\ln \eta_r)/c$ を出した。

5) **流動複屈折 (SB) の測定**　従来われわれの研究室で用いてきた方法[3]により，試料溶液を SB 検出器にかけ，はつきりと黒十字のみえる最低のミオシン濃度によつて，SB の強さを示す。したがつてこの濃度の小さいものほど，SB の強さは大きい。

実　験　結　果

1・1　塩溶性区分の粘度変化

7月15日に入手したいきたヒラメからとつた肉 (pH 6.48) を用い，肉が乾燥していくにしたがつて，その塩溶性区分Lの粘度がどうかわるかをみると，Fig. 1a のようになる。各測定時における肉の脱水率は Fig. 1b に，抽出された各区分の量は Fig. 1c に示してある。

図に明らかなように L 区分の粘度は，乾燥の初期，急激に下る。L区分中にはミオシン区蛋白 (M) と非ミオシン区蛋白 (N) とがふくまれているが，ミオシン区蛋白の粘度は，非ミオシン区蛋白の粘度に比べて極めて大きい。したがつてもしL区分中の M 区分と N 区分との割合が一定なら，

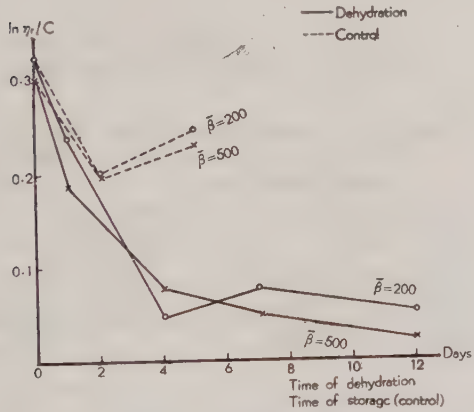


Fig. 1a. Change in viscosity of salt extractable proteins of flatfish fillets in the course of dehydration.

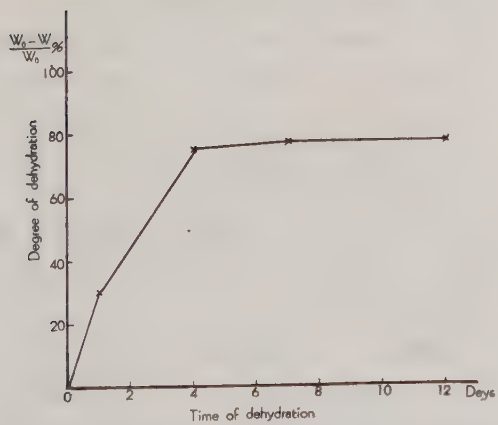


Fig. 1b. Degree of dehydration of flatfish fillets.
W_0: Initial weight of fillets.
W: Weight after dehydration.

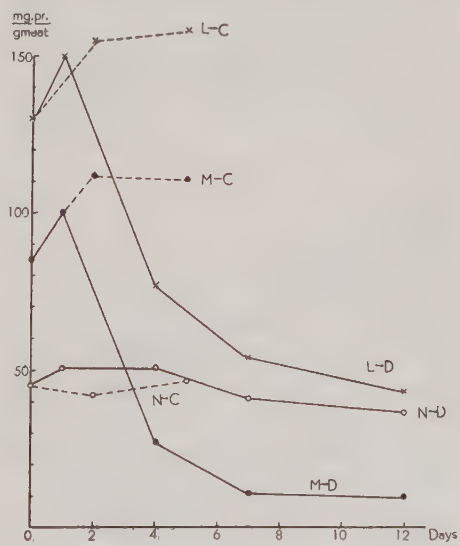


Fig. 1c. Change in extractability of proteins of flatfish fillets on dehydration.
D: Dehydrated　M: Myosins
C: Control　N: Non-Myosins
L: Salt Extracts

L 区分の粘度変化，すなわち Fig. 1a の曲線から，肉の乾燥に伴うミオシン区蛋白の粘度変化を推定することができる。しかし，実さいには，Fig. 1c に示すように， N 区分の量は殆んど一定であるが，M 区分の量は乾燥がすすむにつれて著しくへつている。したがつてこの点吟味を要する。図の粘度数は，前述のように， L 区分中の蛋白濃度 0.7 mg/ml のときの値をとつてある。そこで，L 区分の蛋白 0.7 mg 中のミオシン区蛋白の量を Fig. 1c から出すと Table 2 のようになる。

Table 2. Amount of "Myosins" in salt extractable fraction L.

Time of dehydration (day)	0	1	4	7	12
"Myosins" (mg)	0.41	0.47	0.29	0.16	0.13

しかるに，魚の肉では $(\ln \eta_r)/c$ は c とともに小さくなる[2]。したがつてL区分の粘度数の変化からミオシン区蛋白の粘度数の変化を推定することは妥当ではない。

乾燥 1 日の試料は，対照と同程度のミオシン区蛋白をふくみ，粘度が下つているが，対照群の1日目にも同程度の低下がみられるので，乾燥の影響か否かわからない。

なお速度勾配 200 sec^{-1} と 500 sec^{-1} では殆ん相違が認められなかつた。

1・2 流動複屈折 (SB)

塩溶性区分Lの示す SB は，いうまでもなく，この区分中にふくまれるミオシン区蛋白によるものである。そこで，上記の粘度測定に用いたものと同じ試料について，乾燥日数 0, 2, 7 のとき，はつきりと SB を示すL区分の最低蛋白濃度，およびその中にふくまれているミオシン区蛋白の最低濃度をみると，Table 3 に示すようになる。すなわち，L区分の最低蛋白濃度からみても，その中のミオシン区蛋白濃度からみても，乾燥肉のL区分の SB は対照に比べて著しくよわい。したがつて乾燥した肉の塩溶性区分の SB の低いのは，乾燥によつてL区分中のミオシン区蛋白の含量が小さくなつたばかりでなく，ミオシン区蛋白自身の流動複屈折性の低下にもよることがわかる。

Tbble 3. Minimum protein conc. and min. "Myosin" conc. of Fraction L which gives distinct SB.

Time of dehydration (day)	0	2	7
Min. protein conc. of Fraction L (mg/ml)	0.8	1.6	3.4
Conc. of "Myosins" in Fraction L (mg/ml)	0.47	0.91	0.78

2・1 ミオシン区蛋白試料 S_2 の粘度変化

9月9日手に入れた活きヒラメ肉 (pH 6.62) を用い，乾燥群（乾燥日数 1, 5, 8, 12 日）および対照群（放置日数 0, 1, 2, 7 日）の肉から，Table 1 の方法で，S_1, S_2, S_3 の各区分を分離し，区分 S_2 をミオシン区蛋白試料として，S_1 および S_2 区分の粘度を $\bar{\beta} = 200$ および 500 sec^{-1} にて測定，$c = 0.7$ mg/ml における粘度数を出した。但し S_2 区分中のミオシン区蛋白の量は前にのべたように区分 S_2 と S_3 中の蛋白の差から求めた。

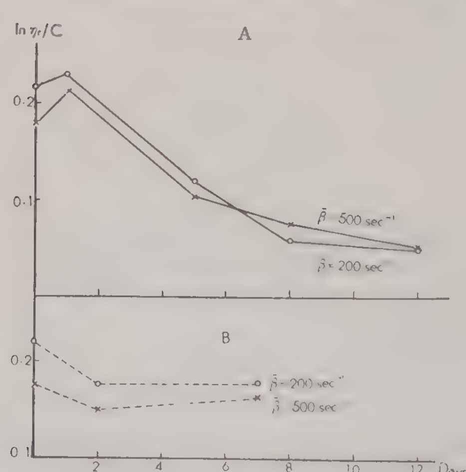


Fig. 2a. Change in viscosity of S_2 fraction of flatfish fillets (A) on dehydration, and (B) on storage.

Fig. 2a は S_2 区分の粘度変化を，Fig. 2b は乾燥群の，Fig. 2c は対照群の各試料から抽出された蛋白区分の量の変化を示す。

〔結果〕

(i) S_1 区分の粘度数　対照群，乾燥群もごく低い（約 0.006）が，この区分はアルブミンよりなつているから当然である。また乾燥による影響もない。

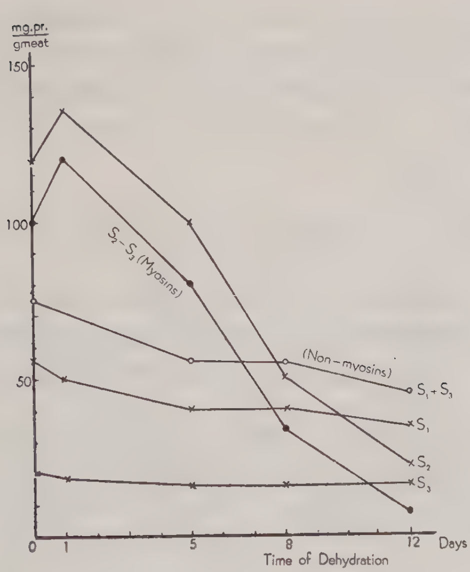


Fig. 2b. Change in extractability of proteins of flatfish fillets on dehydration.

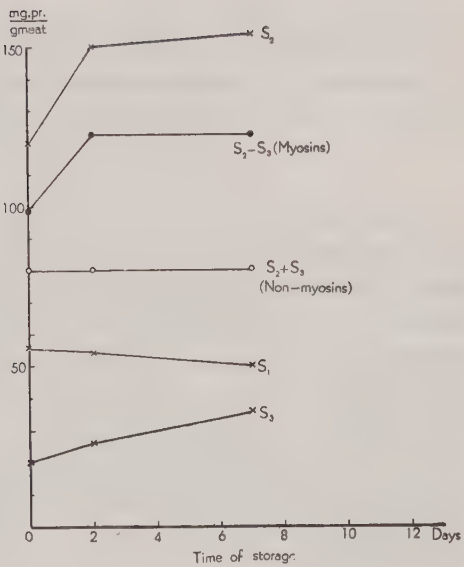


Fig. 2c. Change in extractability of proteins of flatfish fillets on storage.

(ii) 乾燥群の S_2 区分の粘度数 (Fig. 2a の実線)　乾燥のごく初期に，僅かながら上るようにみえるが，乾燥がすすむにつれて急激に下ること，溶出度の変化 (Fig. 2b) と同じ傾向を示している。Fig. 2a の曲線は，S_2 区分の蛋白濃度 0.7 mg/m*l* のときの粘度数であるが，この 0.7 mg 中にふくまれるミオシン区蛋白の量は，Table 4 に示すように，乾燥日数 12 日のものを除くと大差ない。

したがつて乾燥日数 12 日の試料を除くと，Fig. 2a の曲線は，肉の乾燥によるミオシン区蛋白自身の粘度変化を示すものといえる。すなわち肉の乾燥によつてミオシン区蛋白の粘度は下る，いいかえると分子の非対称性がへつていくような変化をうけたことを示す。

(iii) 対照群の S_2 区分の粘度数 (Fig. 2a Bの点線)　この S_2 区分の蛋白 0.7 mg 中のミオシン区蛋白の量は Table 5 に示すように，放置日数 7 日までの試料では，大差ない。

したがつて Fig. 2a の粘度数の変化から，ミオシン区蛋白の粘度数の変化を推定して差し支えない。すなわち放置によつて粘度は幾分下るが，乾燥群のものとは比較にならないほど少ない。但し 2 日以上も放置したものでは自己消化がかなりすすんでいると考えられるので，対照としての意味は疑わしい。

Table 4. Amount of "Myosins" in 0.7 mg of proteins in Fraction S_2 from dehydrated meat.

Time of dehydration (day)	0	1	5	8	12
"Myosins" (mg)	0.57	0.60	0.59	0.53	0.2

Table 5. "Myosins" contained in 0.7 mg of proteins in Fraction S_2 from control meat in storage.

Time of storage (day)	0	2	7
"Myosins" (mg)	0.57	0.57	0.55

2・2　乾燥による流動複屈折の変化

粘度の測定に用いたヒラメ肉の乾燥群からとつた同じ試料，S_1 および S_2 区分の流動複屈折を稀釈法によつてしらべた。

結果は Table 6 に示すように，乾燥がすすむほ

Table 6. Minimum protein concentration and "Myosins" concentration of Fraction S_2 which gives distinct SB.

Time of dehydration (day)	1	5	8
Minimum concentration of proteins in S_2 (mg/m*l*)	0.5	1.6	3.8
"Myosins" in S_2 (mg/m*l*)	0.3	0.9	2.0

ど S_2 区分の SB の強さはへる。S_2 区分中にふくまれる S_3 区分は全く SB を示さず，かつ S_2 区分中のミオシン区蛋白の濃度は前記（Table 4）のように乾燥日数 1 日から 8 日の試料については大体同じであるから，上記の値はミオシン区蛋白の SB 変化を示すものである。すなわち乾燥によつてミオシン区蛋白の SB 性はへる。いいかえるとミオシン区蛋白分子は非対称性のへるような変化をうけたことがわかる。

結　　論

魚肉が脱水されると，抽出されるミオシン区蛋白の粘度数および流動複屈折は低下し，分子の非対称性がへるような変化を受けたことを示す。

BULL[4] は肉の乾燥によつてミオシン区蛋白の溶出度のへる事実を，分子間結合による side to side の凝集のためと考えている。また高橋[5] はイカ肉およびこれを乾燥後水戻しした肉の両者について，水中における熱収縮を比較し，乾燥後水戻ししたものは，熱に対して安定となることをみ，これは，生肉の場合よりも，多数の分子間結合ができていることを示すものとした。

乾燥の結果，ミオシン区蛋白の非対称性がへるというわれわれの結果は，BULL や高橋の説を支持するように思える。但し分子の非対称性の減少は糸状分子の分子内結合による folding によつてもおこりうる。

乾燥肉から抽出されたミオシン区蛋白の非対称性の減少は，分子間の凝集か，分子がよりまるまつた形になつたためかは，今回の実験からは断定することはできない。例えば分子量の測定等によつて明らかにされる今後の問題である。

実験に協力された仁平政男氏に感謝します。この実験については文部省科学研究費の補助をうけた。

文　　献

1) 右田正男・松本重一郎・最首とみ子： 本誌，**22**，433～439 (1956).
2) 右田正男・鈴木たね子： 本誌，**25**，127～135 (1959).
3) MIGITA, M, and MATSUMOTO, J, J,： 本誌，**20**，641～652 (1954).
4) BULL, L. B.： 水島・赤堀編 “蛋白化学” Vol. II, p. 580 (1954).
5) 高橋豊雄： 東海区水産研究所報告 No. 14, 31～90 (1956).

COMPARATIVE STUDIES ON TWO HEMOGLOBINS OF SALMON—V. CHANGE IN PROPORTION OF TWO HEMOGLOBINS WITH GROWTH*

Kanehisa HASHIMOTO and Fumio MATSUURA**

(*Received June 30, 1960*)

It has been reported[1,2] preliminarily that in the blood of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, there are two hemoglobins (Hb's), components F and S, whose quantitative proportion is fairly constant, component F:S being 55%:45% on an average. Among the individuals analyzed, however, there were some ones of which the proportion deviated notably from the average, as shown typically in the case of the fish collected on Jan., 1959, at Yamagata Pref.[3]. It seemed to be interesting to the authors what is at the bottom of this phenomenon, and whether it is of simple physiological nature or of complicated hereditary one, for example which relates to the existence of plural varieties of this species. In order to reinvestigate this problem, the percentage proportion of both components was determined on 151 individuals of this fish, which were caught mainly at several places of this country and were examined relationships between the proportion and some factors, the place and season of catching, sex and body length of the fish, and water temperature. According to the results obtained, it was found that there is a positive correlation between the proportion and body length (or the stage of growth). This phenomenon seems to be noteworthy enough to report, though its true character is not yet be revealed.

Experimental

Materials The blood of chum salmon was collected individually at Hokkaido, Japan Proper, and the North Pacific Ocean, as shown in Figs. 2 and 3 in detail. The fish were matured sexually, which were caught at rivers and a few miles off the coasts of Mashike and Abashiri. All the fish caught at the North Pacific were about 50 cm. long and immature sexually. The blood collected was stored immediately in ice to bring back to our laboratory as quickly as possible, mostly in one or two days after collecting. Hemolyzates prepared as usual from these blood samples were analyzed as described below. The North Pacific blood samples were however partly hemolyzing due to the prolonged storage of more than two weeks and they were analyzed soon after the removal of plasma layer.

Method of estimation of the percentage proportion of both components The percentage proportion of components F and S in the hemolyzate was estimated

* The outline of this article was read before the Ann. Meeting of the Japan. Soc. of Sci. Fish. held on April 4, 1960.

** Faculty of Agr., Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan (橋本周久, 松浦文雄: 東大農学部).

by the heat coagulation method[4]. This method is based on the fact that there is a temperature zone in which component F is coagulated quantitatively while component S not at all when a mixed solution of both components is heated under a fixed condition. The concentration of the pigment in solution was determined spectrophotometrically with a BECKMAN DU spectrophotometer.

One of the difficulties on the estimation of the proportion was how blood samples should be brought to the Laboratory without any secondary changes affecting the proportion. To check whether the percentage proportion changes before analysis, some experiments were carried out using fresh blood samples which were ice-stored for only 6 hours after collecting at the Nitta River, Fukushima Pref. According to the results the proportion of both components determined after the ice-storage for more than 2 weeks was not different from the proportion at 6 hours after collection. Indeed there is no guarantee at present that no change of the proportion takes place during 6 hours storage in ice. Even if any change occurs, however, it will be very slight. Because it is reasonable to consider such a change to proceed gradually rather than drastically, and as mentioned above, there were no symptoms favorable to such a gradual change.

Results and Discussion

Results are represented conveniently in the quantitative ratio of component S to the total amount of both components (abscissa) versus the frequency expressed in the number or percentage of individuals (ordinate). The distribution curve of all the fish hitherto analyzed is an almost normal curve, the ratio of component S varying from 37 to 51% and the axis of symmetry being located at 44 to 45% (Fig. 1).

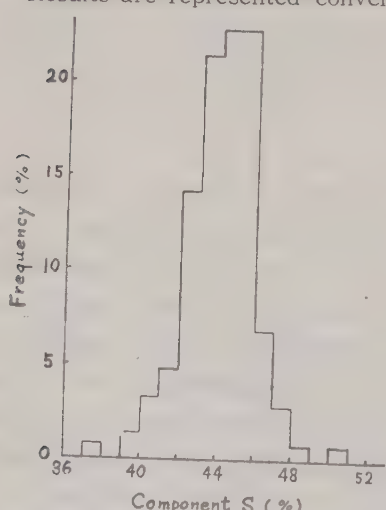


Fig. 1. Distribution of the proportion of components F and S in all the blood samples. The proportion is represented conveniently as percentage of component S to the total amount of Hb. This note is common in all the following figures.

The distribution as classified by the place of sampling is shown in Figs. 2 and 3. It appears that the distribution is different more or less from one place to another, especially among the places of Hokkaido. Then the results of Japan Proper were examined from various points of view such as the ocean of catching, sex and body length of the fish, the water temperature of river, and the season of catching.

The distribution as divided into the ocean

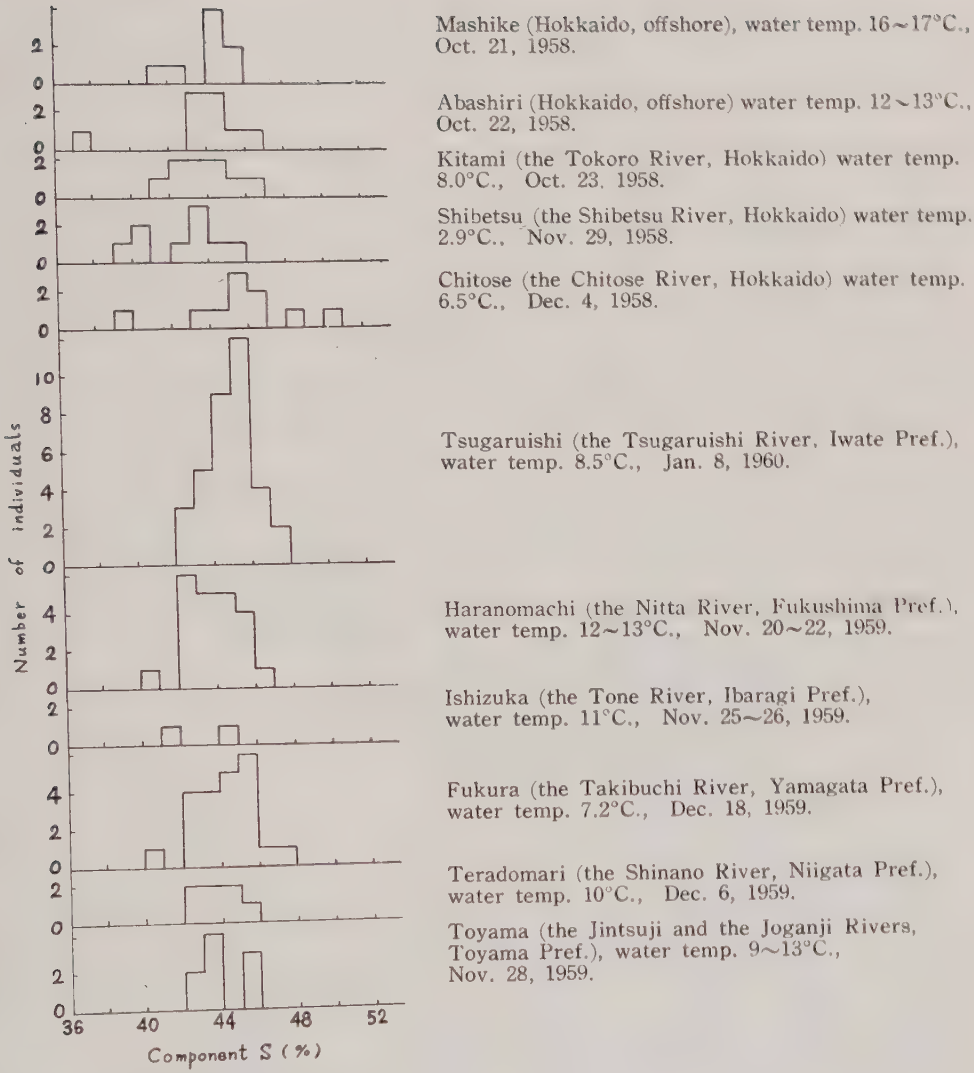


Fig. 2. Distribution of the proportion as classified by the place of catching.

of catching, is shown in Fig. 3, from which it seems that the distribution shifts to the left, though slightly, in the order of the Pacific Ocean, the Japan Sea, and the North Pacific.

No evident relation seems to be present between the ratio and sex, though the distribution curve of female only is lacking in individuals containing component S less than 42% (Fig. 4).

The distribution was analyzed from the point of body length, although most of the fish were adult and fairly large in body size because they were caught in spawn-

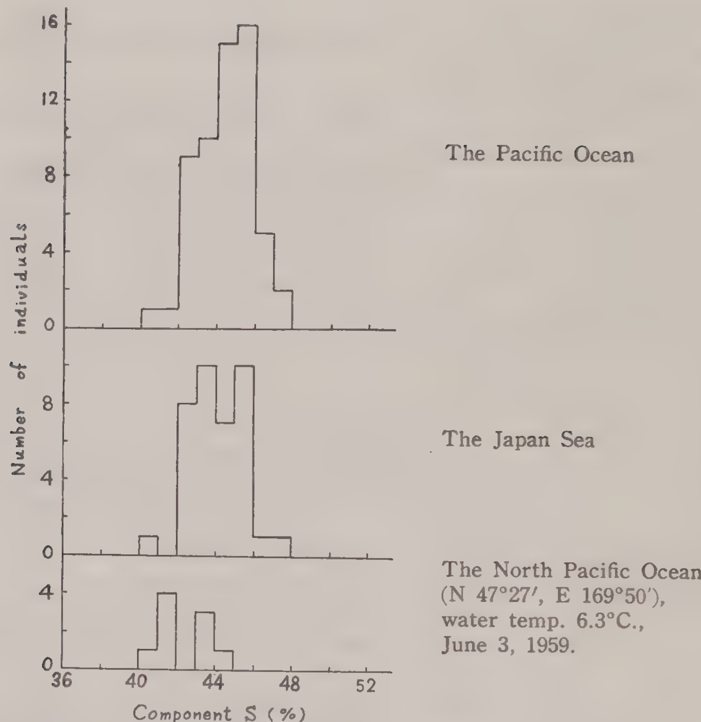


Fig. 3. Distribution of the proportion as classified by the ocean of catching.

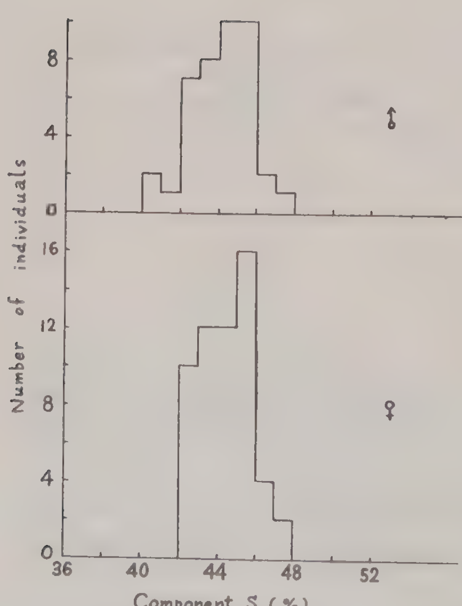


Fig. 4. Distribution of the proportion as classified by sex.

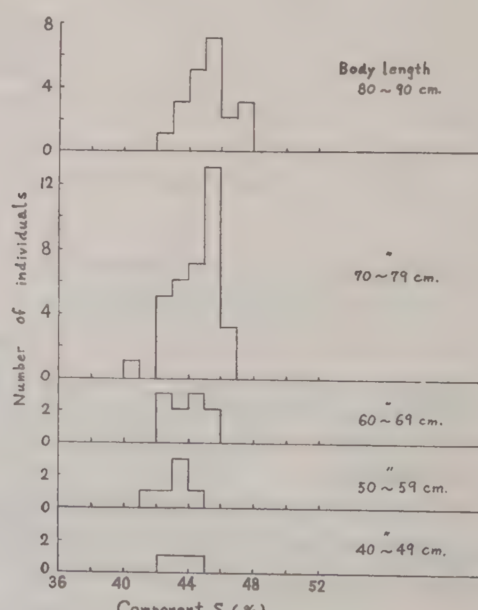


Fig. 5. Distribution of the proportion as classified by body length.

ing season. As seen in Fig. 5, it seems that the longer the body length, the more the distribution shifts to the right. However it may be inadequate to point out conclusively this correlation only from these data, because of scarcity of the analysis on the fish of shorter body lengths.

Next the relation was studied between the ratio of component S and the water temperature of river where the fish were caught. The result is shown in Fig. 6. The border-line of temperature of 9°C. was selected on trial, considering the numbers of the fish caught and the water temperatures at all the places. It seems that the distribution is different to a certain degree between the two groups divided thus.

In Fig. 7, the results at the Takibuchi, Yamagata Pref., and the Tsugaruishi, Iwate Pref. are presented respectively over two seasons of catching. It is seen easily that the distribution varies appreciably with the season (or time) of catching at the same place.

Thus it seems that the percentage proportion of both components is more or less related to these factors except sex of the fish. Above all, the correlation with body length of fish is most probable: There is a tendency that the longer the body length, the more the quantitative ratio of component S increases. In fact, the majority of the fish caught at the North Pacific all of which were small (about 50 cm. long) contained component S less than 42% (refer to Fig. 3). So is the case with the situation of the Takibuchi in Jan., 1959 (refer to Fig. 7), in which all the fish were

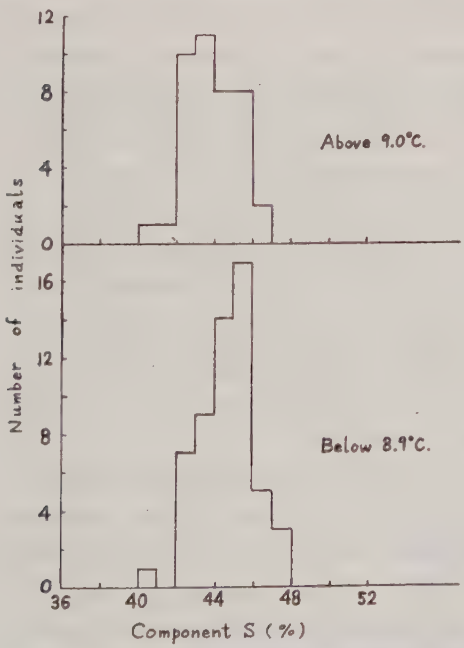


Fig. 6. Distribution of the proportion as classified by water temperature. The border-line of 9°C. was selected arbitrarily.

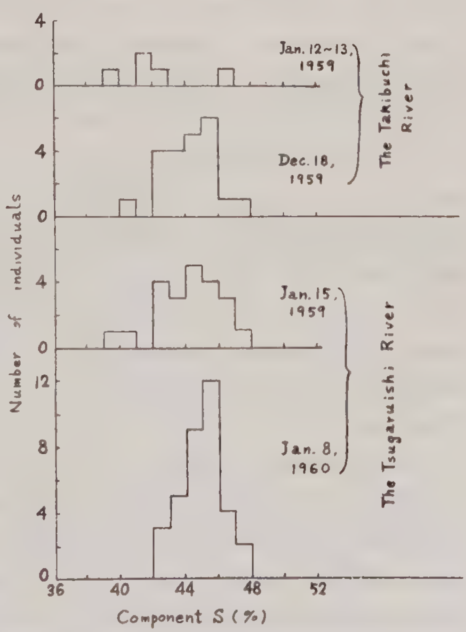


Fig. 7. Distribution of the proportion as classified by the season of catching at the Takibuchi, Yamagata Pref. and at the Tsugaruishi, Iwate Pref..

of comparatively small size. These two findings seem to support the correlation between the percentage proportion of both components and body length. Thus, the correlations between the ratio and the several factors above mentioned may be regarded as different phases of one phenomenon.

In order to confirm further the correlation between the ratio of component S and body length, the same analysis was made on the blood of larval chum salmons (6～8 cm. long and 1.5 g. weighed on an average) which were caught on May 23, 1960, at the Tsugaruishi Salmon Hatchery, Iwate Pref. Blood from 73 individuals was combined to analyze, as only one to two drops of blood were obtained per fish by cutting tail. According to the result, the quantitative ratio of component S was only 23.6% in this sample. It is very clear that this supports strongly the correlation in question.

In this connection, it has been reported recently[5] that the percentage proportion of two components of Hb is different remarkably between red salmon and its land-locked form, Hime-masu, the quantitative ratio of component S being about 50% in the former and about 30% in the latter. This difference might be, however, of apparent nature based on the difference in growth stage, because the red salmons were adult and about 50 cm. long whereas the Hime-masus immature and only about 20 cm. long. The authors wish to throw more lights on this problem in the future.

Thus it was found that in the blood of chum salmon there are always two types of Hb whose percentage proportion correlates to body length or the degree of growth of the fish. Then either of both seems not to be such abnormal Hb as in the case of anemic diseases of human. It has been reported on sheep[6,7] or cattle[8] that some breeds possess two types of adult Hb and the other breeds only either of the two, and the difference of the occurrence of the Hb's seems to be determined genetically. The present phenomenon should be however regarded as a different one from it. Adinolfi *et al.*[9] has reported that in the blood of lamprey there is present one type of Hb, which is likely to correspond to fetal Hb in mammalia, in addition to ordinary adult type of Hb, both types of Hb occurring in a nearly same concentration at larval stage while most of the fetal-like Hb disappearing at adult stage. The present case seems to be compared rather with the case with lamprey, although they should be distinguished in the point that at adult stage chum salmons possess both Hb's in an almost same concentration, while lampreys mainly adult Hb.

Next problem is what physiological significances the present phenomenon implies. As reported previously[10] respiratory properties of both components of chum salmon Hb are different remarkably from each other: Component F is one of the Hb's of the lowest oxygen affinity among fishes. The oxygen affinity is affected strongly by pH. In a great contrast component S shows a fairly high oxygen affinity and is absent completely in the pH effect. On the other hand salmons are very specific ecologically in moving down from fresh water (river) to sea at larval stage and returning to fresh water again to spawn. These two facts, i.e., the difference in respiratory function of both

components and the ecological specificity of this fish, may be related directly to this phenomenon, although no reasonable explanation is yet given on this matter. Further studies will be continued to clarify this phenomenon.

Summary

The estimation of the percentage proportion of two Hb's was made by the method of heat coagulation on many individual samples of adult salmon and on a combined sample from larval salmons.

The frequency curve of all the fish analyzed showed an almost normal curve, the proportion of component F:S being 63∼49%:37∼51% and about 55%:45% on an average. It seems that the proportion correlates to several factors such as the place and season of catching, water temperature, and body length except for sex. Most probable is the correlation with body length, which is supported by the proportion (F:S=24%:76%) of larval blood. Correlations with the other factors might be different phases of the correlation with body length.

The authors wish to thank Mr. Y. Yamaguchi and Mr. H. Eguchi for their technical assistance. The expenses of this study were defrayed partly by a research fund granted from the Ministry of Education.

References

1) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **24**, 719 (1959).
2) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **24**, 724 (1959).
3) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: Read before the Ann. Meetg. of the Japan. Soc. Sic. Fish. held on Apr. 1, 1959 (Tokyo).
4) Matsuura, F., Hashimoto, K., and Haruta, N.: *This journal* **24**, 730 (1959).
5) Hashimoto, K., and Matsuura, F.: *This journal* **26**, 354 (1960).
6) Huisman, T. H. J., van Vliet, G., and Sebens, T.: *Nature* **182**, 171 (1958).
7) van der Helm, H. J., van Vliet, G., and Huisman, T. H. J.: *Arch. Biochem. Biophys*, **72**, 331 (1957).
8) Bangham, A. D., and Blumberg, B. S.: *Nature* **181**, 1551 (1958).
9) Adinolfi, M., and Chieffi, G.: *Nature* **182**, 730 (1958).
10) Hashimoto, K., Yamaguchi, Y., and Matsuura, F.: *This journal*, **26**, 827 (1960).

アサクサノリの生化学的研究—II.

諸種窒素源の利用機構について

伊藤啓二・佐藤孜郎・佐藤美和・松本文夫

(1960 年 6 月 30 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE EDIBLE SEAWEED, *PORPHYRA TENERA*—II.

ON THE UTILIZATION OF VARIOUS NITROGENOUS COMPOUNDS

Keiji Ito, Shiro Sato, Yoshikazu Sato and Fumio Matsumoto*

The purpose of the present work is to compare the rates and extents of utilization of such different nitrogen sources as ammonium chloride, sodium nitrate, sodium nitrite, urea and several amino acids by *Porphyra tenera*. The frond of this alga was cultured for a period of 2 days with one of these compounds as the sole nitrogen source. The comparison was made on the basis of both the decreasing rate of the added nitrogen in the culture media and the forms and amounts of the nitrogenous constituents of the frond.

The results obtained are shown in Tables 1～4, and are summarized as follows:

(1) Ammonia was easily absorbed by the frond, in which the soluble nitrogenous compounds, chiefly amide, alanine, glutamic acid and citrulline, were accumulated. The insoluble nitrogen in the frond, however, did not increase so markedly as the soluble nitrogen.

(2) Nitrate was also absorbed easily, and usually a large amount of nitrate was accumulated in the frond. This suggests that further reduction and conversion of nitrate to organic forms might be restricted by the capacity of the alga to reduce it. However, since the use of nitrate as the nitrogen source characteristically leads to a relatively low content of soluble nitrogen, it seems that this nitrogen source is generally more conducive to the protein synthesis than ammonia or nitrite.

(3) The permeability of the frond to nitrite was not so great. Once nitrite was absorbed, however, it was reduced entirely and caused a marked increase of soluble nitrogenous compounds in the frond, as in the case of ammonia.

(4) The rate of absorption of urea was so variable in different experiments that we have not yet been able to formulate any characteristic feature of urea utilization in this alga.

(5) Glycine, alanine, arginine and sodium glutamate were scarcely or not absorbed by this alga in the present experiments.

著者らは前報[1]において，2，3 の無機窒素化合物および尿素を海水中に添加し，アサクサノリを培養した場合，葉体中の総窒素量，特に可溶性窒素成分が急速に著しい増加を示すことを報告した。しかし，これらの成分変化は添加窒素源の種類によって一様ではなく，その原因としては生育環境の諸条件によるほかに，添加窒素源に対するアサクサノリの吸収同化能力の差異によるところも大きいと考えられた。よって今回は NH_4Cl, $NaNO_3$, $NaNO_2$, 尿素及び数種のアミノ酸を用い，更に分析項目を多くして，添加窒素源の吸収ならびに同化の機構を追究してみた。アミノ酸についても実験を行ったのは，arginine が *Chlorella* 等の緑藻類で利用され得ること[2]が知られているが，アサクサノリについては報告が見られないので，これを明らかにしようとはかったからであって，用いたアミノ酸は glycine, DL α-alanine, L arginine, Na glutamate の4種である。

* 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish. and Ani. Hus., Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan).

分析項目としては前報と同様葉体中の総窒素，可溶性窒素，遊離 alanine, 同 glutamic acid, 同 aspartic acid を測定したほか，$NH_4^{\cdot}$, NO_3', NO_2', 尿素，amide-N, arginine, citrulline を加え，また培養海水中の添加窒素源の減少度をも測定した。

実験方法

(1) 試料および培養方法

実験は1959年12月より1960年2月下旬にわたつて行つたもので，試料ノリはいづれも実験開始当日，福山市箕島漁場で採取した。培養方法は 1l 容のビーカーにそれぞれ所定の窒素源を添加した海水 900cc を入れ，試料ノリ約 50g を2日間培養した。攪拌方法および終了後の試料の処理方法はすべて前報[1]と同様である。

(2) 定量方法

a) 総窒素，可溶性窒素，alanine, aspartic acid, glutamic acid: 前報と同様である。

b) $NH_4^{\cdot}$-N: indophenol 比色法[3]による。

c) NO_3'-N: 還元 strychnine 法[4]による。葉体中の含量は試料の 70% アルコール抽出液を濃縮せずに定容とした後定量する。

d) NO_2'-N: GRIESS-ROMIJN 試薬[4]の発色により測定する。葉体中の含量は前者と同一の試料液を用いる。

e) 尿素: urease によりアンモニアを遊離せしめ，b) の比色法により測定する。

f) amide-N: 試料抽出液を N·H_2SO_4 溶液とし，100°C, 3時間加熱して遊離するアンモニアを定量し amide-N とする[5]。ただし，尿素を含むものについては同一条件下における尿素の分解量を測定して補正を行う。

g) arginine: *Leuc. mesenteroides* P-60 を用いる微生物定量法による。

h) citrulline: diacetylmonoxime による比色法[6]によるが，allantoin その他についての補正は行なつていない。これは試料液を発色せしめた場合，その吸収極大は 490mμ にあり，よく citrulline 発色の吸収曲線と一致し，他の成分による影響は少いものと考えられたからである。

i) 海水に添加したアミノ酸: ninhydrin 比色法[7]による。

実験結果

(1) 各種窒素源の利用状態

利用状態が供試ノリの質および採取の時期により変動することが予想されるので，これらをも含めて検討するために12月と2月の2回の試料につき培養を行なつた。添加窒素源は実験1では N 濃度 0.005%，実験2では 0.01% とし，両者ともに Na_2HPO_4 を P として N の 10% ずつ加えた。

Table 1 に各回における海水中の窒素源残存率を示し，Table 2 に葉体の分析値を示した。

Table 1. Decrease of the added nitrogen in the media after 2 days' cultivation of *Porphyra tenera*.

Experiment 1. Initial concentration: 0.005% as N. Dec. 21, 1959

	NH_4Cl	$NaNO_3$	$NaNO_2$	Urea	Glycine	Alanine	Arginine	Na-glutamate
Initial	100	100	100	100	100	100	100	100
After 2 days	14	4	72	23	98	100	98	99

Experiment 2. Initial concentration: 0.01% as N. Feb. 14, 1960

	NH_4Cl	$NaNO_3$	$NaNO_2$	Urea	Glycine	Alanine	Arginine	Na-glutamate
Initial	100	100	100	100	100	100	100	100
After 2 days	59	29	63	70	99	97	100	100

Table 2. Effect of the exogenous nitrogen supply on the nitrogenous constituents of the frond of *Porphyra tenera*. (Culture period: 2 days)

Experiment 1. Dec. 21, 1959

N-source	Total-N*	70% alcohol extractives										
		Total-N*	NO_3'-N	NO_2'-N	NH_4'-N	Urea-N	Amide-N	Alanine-N	Arginine-N	Aspartic acid-N	Glutamic acid-N	Citrulline-N
	%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
Initial	2.60	420	—	—	11.0	—	25.0	79.1	7.1	22.9	41.7	9.4
None (control)	2.61	351	—	0	10.0	—	18.3	40.6	7.5	13.3	41.0	10.7
NH_4Cl	3.99	1230	—	0	69.5	—	210	148	21.4	44.1	81.8	32.9
$NaNO_3$	3.42	560	532	0	17.2	—	45.3	173	13.7	29.2	45.8	12.6
$NaNO_2$	3.53	788	0	0	18.9	—	86.2	156	21.4	26.1	64.1	13.7
Urea	3.77	832	—	—	10.0	5.9	124	156	21.4	44.6	98.9	17.1
Glycine	2.72	356	—	—	8.3	—	21.7	60.7	11.7	7.6	36.0	8.8
Alanine	2.75	364	—	—	7.5	—	26.7	58.4	10.2	10.2	32.4	8.8
Arginine	2.74	344	—	—	9.8	—	24.4	39.5	7.2	10.8	33.0	9.3
Na-glutamate	2.75	392	—	—	7.6	—	28.1	37.3	10.2	14.6	40.5	9.1

Experiment 2. Feb. 14, 1960

N-source	Total-N*	70% alcohol extractives										
		Total-N*	NO_3'-N	NO_2'-N	NH_4'-N	Urea-N	Amide-N	Alanine-N	Arginine-N	Aspartic acid-N	Glutamic acid-N	Citralline-N
	%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
Initial	3.31	334	0	0	trace	—	39.6	46.6	7.8	18.3	46.8	7.6
None (control)	3.14	316	0	0	〃	—	15.1	22.4	7.8	8.8	36.0	7.6
NH_4Cl	4.40	802	—	—	8.5	—	144	197	15.0	18.1	92.5	40.6
$NaNO_3$	4.58	542	1560	0	trace	—	39.7	106	10.0	24.0	53.8	12.3
$NaNO_2$	4.31	733	—	0	〃	—	83.4	187	17.4	19.0	86.0	21.4
Urea	4.24	602	—	—	4.3	3.2	45.1	154	15.6	13.5	61.8	16.7
Glycine	3.28	344	—	—	trace	—	24.5	21.7	8.4	10.0	42.2	7.6
Alanine	3.28	344	—	—	4.8	—	24.0	21.8	9.3	9.4	40.0	6.8
Arginine	3.32	338	—	—	trace	—	23.3	35.6	9.3	8.5	44.0	6.5
Na-glutamate	3.28	316	—	—	〃	—	26.3	20.1	10.1	8.2	39.1	6.6

* Determined by the Kjeldahl method.

これらの結果を総括してみると，一般に NH_4Cl は比較的吸収が容易のようで，かなりの量が葉体中に遊離のままで蓄積される場合もある。しかし，一方可溶性成分，特に amide N, alanine, glutamic acid, citrulline 量の増加も著しい。$NaNO_3$ は吸収という点ではもつとも効率がよいようであるが，いずれも NO_3' N のまま組織内に蓄積されている量がきわめて多い。そして，その還元過程にあると思われる NO_2'-N は全く葉体内に見出されず，NH_4'-N の増加もあまり認められない。可溶性成分の増加は実験1において alanine のみ著しく，その他は総窒素の増加に比して顕著ではない。$NaNO_2$ の吸収量は両者とも 30～40% 程度でよく吸収されるとはいえない。しかし，NO_2'-N として葉体中に測定される量は全くなく，吸収されたものはすべて還元されるらしく，総窒素量では $NaNO_3$ の場合と同程度増加している。尿素は実験1の試料の場合には非常に吸収がよかつたが，実験2では吸収量が30%と激減し，大きな相違を示した。アミノ酸類については海水中の残存率がいずれも 97～100% であつて，葉体の分析値からの結果もほとんど無添加のものとの差異がなく，これらアミノ酸の吸収は全く行なわれないか，あるいはきわめて僅かではないかと考えられる。

(2) NH_4Cl, $NaNO_3$, $NaNO_2$, 尿素の添加濃度による利用状態の差異

おのおのの窒素源をNとして海水に対し 0.0025%, 0.005%, 0.01%, 0.05% と4通りの濃度で添加し，2日間培養した場合に葉体に現われる成分の変化を Table 3 および Table 4 に示した。本実験は2月末に行なつたものである。

Table 3. The soluble nitrogenous constituents of the frond of *Porphyra tenera* cultured with various concentrations of $NaNO_3$ or $NaNO_2$ as the sole nitrogen source. (Culture period: 2 days)

Feb. 20, 1960

N-source		Total-N*	70% alcohol extractives: Total-N*	NO_3'-N	NO_2'-N	$NH_4^{\cdot}$-N	Amide-N	Alanine-N	Arginine-N	Aspartic acid-N	Glutamic acid-N	Citrulline-N
		%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
Initial		3.31	414	trace	0	4.6	19.6	54.7	10.8	20.9	77.5	9.1
None (control)		3.19	336	〃	0	4.2	18.5	42.3	8.6	10.4	43.2	6.9
$NaNO_3$	N: 0.0025%	3.40	447	〃	0	4.9	18.5	60.5	12.7	14.4	51.6	9.3
	0.005%	4.23	510	735	0	5.0	24.2	90.3	11.6	15.9	60.0	9.7
	0.01%	4.66	542	1153	0	5.7	57.2	66.0	11.6	18.2	60.5	10.0
	0.05%	3.87	510	1470	0	5.7	26.8	93.5	11.6	15.5	64.0	11.3
$NaNO_2$	N: 0.0025%	4.09	478	—	0	5.3	20.5	59.3	13.7	15.7	58.8	12.6
	0.005%	4.27	670	—	0	6.0	43.6	151	14.4	23.4	82.5	24.5
	0.01%	4.28	701	—	0	6.4	54.5	167	15.9	27.0	64.9	26.6
	0.05%	4.38	1018	—	0	7.9	174	206	22.5	24.5	119	45.4
	0.1%	4.58	1230	—	0	16.3	305	252	17.5	23.0	137	49.4

* Determined by the Kjeldahl method.

Table 4. The soluble nitrogenous constituents of the frond of *Porphyra tenera* cultured with various concentrations of NH_4Cl or urea as the sole nitrogen source. (Culture period: 2 days)

Feb. 23, 1960

N-source		Total-N	70% alcohol extractives: Total-N	$NH_4^{\cdot}$-N	Urea-N	Amide-N	Alanine-N	Arginine-N	Aspartic acid-N	Glutamic acid-N	Citrulline-N
		%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
Initial		2.44	258	trace	—	21.8	20.1	9.6	16.8	45.6	7.2
None (control)		2.49	244	〃	—	21.0	15.1	7.6	11.8	35.8	6.5
NH_4Cl	N: 0.0025%	3.21	345	〃	—	53.3	57.1	10.4	25.4	72.8	14.8
	0.005%	3.88	1080	7.6	—	230	222	16.8	24.0	142	34.8
	0.01%	4.37	1420	40.2	—	354	308	17.5	19.5	158	43.2
	0.05%	4.49	1780	665	—	173	538	14.8	18.8	94.9	71.2
Urea	N: 0.0025%	3.00	388	trace	2.6	34.1	60.0	10.8	18.0	60.8	11.5
	0.005%	2.97	388	〃	3.6	34.1	56.2	13.4	17.8	67.0	10.5
	0.01%	2.97	431	〃	8.0	43.9	70.7	12.0	19.7	69.0	13.7
	0.05%	3.53	575	5.0	9.8	41.5	116	13.0	25.0	64.0	22.4

$NaNO_3$ は 0.005% 以上では前項の実験 (Table 2) と同様に葉体内における NO_3'-N 含量が急速に増加してくるが，NO_2'-N の形では見出されない。また添加窒素源の濃度の増加に伴なつて総窒素量はかなり増加するにもかかわらず可溶性窒素量の増加はあまり著しくなく，amide-N, alanine の増加が僅かに認めら

れる程度である。しかし，0.05% の濃度のものはこれ以下の濃度のものより総窒素の増加量がかえつて少なかつた。$NaNO_2$ は前項の実験に比し，可溶性窒素量の増加が特に著しく，その増加量は主として amide-N, alanine, citrulline, glutamic acid として示されるが，しかし遊離 $NH_4^{\cdot}$-N の増加が少ない点を除いては全く NH_4Cl の場合と同様の傾向を示している。NH_4Cl は濃度の増加に伴い吸収量が増加する点では前二者と同様であるが，吸収された窒素量のある限界以上はすべて可溶性窒素量の増加で示され，$NH_4^{\cdot}$-N, alanine, glutamic acid, citrulline として相当量の蓄積が認められる。特に，添加窒素量が 0.05% の場合には実験開始前と比較して，総窒素量が 2.05% の増加であるのに，可溶性窒素の増加量は 1520 mg% (1.52%) であり，吸収された窒素量の約 74% は可溶性窒素として存在している。そしてこの可溶性窒素の増加分は $NH_4^{\cdot}$-N, amide-N, alanine-N, glutamic acid-N, citrulline-N の5者で約 95% が占められているのである。尿素は今回の実験においては対照に比して明らかに窒素量の増加が認められるものの，濃度の増加による差異は 0.05% 添加のもの以外はほとんど認められなかつた。

考　　察

以上の実験結果からアサクサノリの窒素源を吸収・同化する能力は時期及び試料の状態によりかなり相違するが，各窒素源については一応特徴的な傾向を示すと思われるので，これらについて検討する。なお，これら一連の実験は無菌処理を行なつて実施したものではないが，同一窒素源を試験期間中それぞれ単独に海水に溶解，放置した場合の減量をみて変化が認められなかつたことと，培養温度も 2°～10°C の低温であり，期間も短かいので細菌による大きな影響はないものと考えた。

$NH_4^{\cdot}$-N は細胞内によく吸収される反面，吸収された窒素が蛋白態窒素としてとり入れられる量は比較的少く，ほとんどが可溶性窒素の増加にとどまるようである。そして amide-N, alanine の増加がもつとも著しい。本実験では glutamic acid および aspartic acid は微生物定量法によつており，amide 態のものも測定されているから (glutamic acid 定量の際の滅菌条件を 100°C, 10 分とし，glutamine の分解[8] を考慮した。), amide-N が glutamine および asparagine のみに由来するものであれば，その量は glutamic acid-N と aspartic acid-N の和より小さくならねばならない。しかし，$NH_4^{\cdot}$ の吸収量の多い場合には，はるかにこれを凌駕して検出されるから glutamine 以外に amide 態様のものがなお多量に形成されるのではないかと考えられる。また *Chlorella* についての報告[9] によると arginine は NH_4 塩吸収時に glutamine についで増加するアミノ酸であるというが，アサクサノリにおいては，むしろこのアミノ酸よりも，同じ ornithine cycle に関与する citrulline に大きな増加が見られている。alanine の蓄積は非常に特異的であつて，窒素吸収時には例外なくその量が急激に増加して，全可溶性窒素量の 30% をも占めることがある。このことは alanine が無機窒素源同化過程における2次的生産物[10] であるとしても，アサクサノリにおいては蛋白質合成ないし窒素貯蔵に重要な役割を果しているものと考えられるのではなかろうか。

NO_3'-N の利用能力は，その時期に葉体の保持する硝酸還元能力のいかんに左右されるようである。葉体内に NO_2' が全く見出されないし，可溶性窒素の増加も 1，2 の例外を除いては $NH_4^{\cdot}$ の場合に比し，非常に少いので，NO_3' から NO_2' に還元されたものについてはきわめて効果的に蛋白態まで同化されると考えられる。

NO_2'-N の利用度は全く細胞の吸収能力の問題のようであつて，いかに培養液中の NO_2' の濃度が増しても細胞内に遊離のものは見出されず，吸収されたものはすべて還元され，各可溶性成分の増加となつている。この点 NH_4Cl 吸収の場合と全く同様の機構と思われ，NO_3' の場合とは明らかにその様相を異にしている。

尿素についてはその吸収に時期的にかなりの差が生じ，一貫性のある結果が得られていないが，吸収量の多い場合には比較的可溶性窒素量も増加し，amide-N, alanine, glutamic acid の増加も見られた。しかし野沢の報告[11]によると，尿素を同化した葉体には glutamine が見出されなかつたとしているので，なお疑問の点が多い。

アミノ酸類は本実験のような条件下ではアサクサノリによつてほとんど吸収されないようで，*Chlorella*

で arginine が吸収・同化されること[9]と明らかに相違がある。

要　約

（1） アサクサノリを2日間培養して，NH_4Cl, $NaNO_3$, $NaNO_2$, 尿素および glycine, alanine, arginine, Na-glutamate の窒素の吸収ならびに同化の状態について検討した。

（2） $NH_4^{\cdot}$-N はよく吸収され，葉体内には可溶性成分，特に glutamine, alanine, citrulline の著しい増加が見られるが，蛋白態窒素の増加はそれほど顕著でない。

（3） NO_3'-N はつねによく吸収されるが，NO_3' のまま細胞内に蓄積される量も多い。しかし還元されたものについては NO_2' ないし $NH_4^{\cdot}$ としても蓄積されず，比較的容易に蛋白態に変るらしい。

（4） NO_2'-N は吸収量はあまり多くないが，細胞内に NO_2' のまま蓄積されることはなく，吸収されたものは容易に還元され，可溶性成分の増加は $NH_4^{\cdot}$ を使用した場合と類似している。

（5） 尿素の吸収状態は時に応じて変動し，概して初期（12月）の試料ではよく吸収されるが，終期（2～3月）には吸収がわるい。吸収のよい場合には glutamine, alanine もかなり形成され，特に他の窒素源との差異は認められない。

（6） アミノ酸類は本実験の条件下ではほとんど吸収されない。

文　献

1) 佐藤孜郎・佐藤美和・伊藤啓二・松本文夫： 本誌，**25**, 661 (1959).
2) Bollard, E. G.: *Utilization of Nitrogen and Its Compounds by Plants.* Ed. H. K. Porter, Cambridge, University Press. pp. 311 (1959).
3) 八木国夫・奥田　潤： 蛋白質・核酸・酵素，**4**, No. 2, 57 (1959).
4) 日本海洋学会： 海洋観測指針，pp. 171 (1955).
5) Conway, E. J.: 石坂音次訳，微量拡散分析及び誤差論，南江堂，pp. 155 (1957).
6) Archibald, R. M.: *J. Biol. Chem.*, **156**, 121 (1944).
7) 須山三千三・鴻巣章二： 本誌，**23**, 555 (1958).
8) 鈴木友二・村岡三郎： ビタミン，アミノ酸の微生物定量法，南江堂，pp. 95 (1956).
9) Hattori, A.: *J. Biochem.*, Tokyo, **45**, 57 (1958).
10) Folkes, B. F.: *Utilization of Nitrogen and Its Compounds by Plants.* Ed. H. K. Porter, Cambridge, University Press. pp. 137 (1959).
11) 野沢洽治： 水産増殖 **7**, No. 2, 1 (1959).

塩蔵淡水魚の鮮度判定に関する研究—I.

塩蔵フナの鮮度判定法の比較

黒 田 栄 一

(1960 年 6 月 30 日受理)

STUDIES ON THE DETERMINATION OF SPOILAGE IN BRINED FRESH-WATER FISHES—I.

COMPARISON OF VARIOUS METHODS FOR THE DETERMINATION OF SPOILAGE IN BRINED *CARASSIUS CARASSIUS* L.

Eiichi KURODA*

A comparison of various chemical methods for the determination of spoilage in fresh-water fishes, especially *Carassius carassius* L. in Lake BIWA, was experimentally made: namely $HgCl_2$ test, pH test, volatile basic nitrogen (VBN) and volatile reducing substances (VRS). $HgCl_2$ test was unfavorable and pH test uncertain for the fresh-water fishes. The reason for the findings described above might be due to the difference of the meat component and qualities between fresh-water and sea fishes. VRS was measured by steam distillation on 10 m*l* of water extract from flesh for 20 minutes, the reagents and titration were the same with FARBER's method. Data in Table 3, 4, 5, 6 and Fig. 1, 2 show that VRS is more sensitively applicable to evaluate the degree of spoilage of fresh or brined fresh-water fishes and values are closely corelated with those of organoleptic judgement.

著者は前にフナずし[1]の加工法および製品について科学的検討を行つたが，その際このような塩蔵魚の腐敗度の判定に一般に使用されている化学的判定法が適用できるものかどうか疑問を持つた。淡水魚は海水魚に比べて自己消化温度が低くかつ腐敗の速いこと，魚臭成分が異なること[2]等種々な点で異なつている。また一般に魚類の加工に当つてはまづその鮮度を知らねばならない。

鮮度の化学的判定法として最も簡単な $HgCl_2$ 沈澱反応を淡水魚に試みたところ，天野[32]の規定に対して異常現象を呈した。これらの現象は環境の相異による淡水魚と海水魚との体質の相異に基くものと思われる。腐敗現象そのものは同一であつても腐敗によつて分解生産された物質の種類と量とは異なるかも知れない。また淡水魚の持つ異臭を除き鮮度保持に役立つ最も簡単で安全な方法は塩蔵であるが，このような淡水魚の塩蔵品の鮮度判定にいかなる物質を指標とすればよいか。FARBER[4]はアルカリ性 $KMnO_4$ を還元する揮発性還元物質 (VRS) が鮮度の官能的検査の総合とよく一致すること，かつ加工品にも適用できることを述べている。FARBER は魚肉圧搾汁を常温で通気して VRS 値を定量しているが著者は魚肉水浸出液を水蒸気蒸溜して VRS 値を定量しこの方法をフナの生魚および塩蔵魚の腐敗過程の判定に試み併せて従来からの VBN 値による判定法と比較検討を行つたのでここに報告する。

実 験 の 部

試料: 実験に供したフナ *Carassius carassius* L. はびわ湖南部で漁獲し，瀬田大橋附近の生簀で飼養した体長 25～35 cm，重さ 350g のものでその平均一般分析値は次の通りである。(Table 1)

実験に際しては延髄刺殺を行ない直ちにうろこを落し，内蔵を除去して試料とした。

* 滋賀大学学芸学部 (Fac. Lib. Arts., Shiga Univ., Ôtsu, Japan).

Table 1. Mean values of general chemical constituents of muscles of *Carassius carassius* L. at various periods.

Month	Moisture %	Crude protein %	Crude fat %	Ash %
June	79.17	19.8	3.03	1.04
July	78.66	19.8	1.82	1.16
Aug.	76.80	21.4	1.77	0.97
Sept.	79.21	19.2	1.54	1.13
Dec.	79.13	21.3	1.01	1.11
Jan.	80.29	20.9	1.09	1.12

鮮度の判定法

a. 揮発性塩基性窒素（VBN）の定量

富山[5]の方法をわずか変えた水蒸気蒸溜法を用いた。試料魚肉の一部を切取り，筋肉のみ10g に氷冷した蒸溜水 50 ml を加えて擂砕攪拌し，これに 10% 三塩化酢酸を加えて再び充分擂砕攪拌の後 10 分間放置し，乾燥沪紙で沪した。この沪液 10 ml に 20% 炭酸カリ溶液を 5 ml 加えて水蒸気蒸溜し，溜出液を 0.1 N 硫酸に受け過剰の硫酸を congored を指示薬として 0.1 N 苛性ソーダで滴定した。

b. 揮発性還元物質（VRS）の定量

FARBER[4]の方法を取捨して水蒸気蒸溜法を考案した。試料魚肉 10g に氷冷した蒸溜水 100 ml を加え，30 分間擂砕攪拌の後乾燥沪紙で沪過して水浸出液を調製した。この水浸出液の 10 ml を取つて水蒸気蒸溜を行ない，脱出気および溜出液を 0.02 N $KMnO_4$ の 1 N 苛性ソーダ溶液中に導きこの蒸溜を 20 分間継続した。受器の $KMnO_4$ 溶液に 6N 硫酸 5 ml を加えて酸性とし，これに 20% 沃度カリの 0.1% 炭酸ソーダ溶液 3 ml を加え，遊離した沃素を澱粉溶液を指示薬として 0.025 N $Na_2S_2O_3$ の 0.2% 炭酸ソーダ溶液で滴定した。また別に対照として純水で盲験を行ないこの滴定値から上記試料の場合の滴定値を差引き $KMnO_4$ の還元量すなわち揮発性還元物質（VRS）の量を試料魚肉 100g についてミリグラム当量で表わした。

c. $HgCl_2$ による沈澱反応

天野[3]の規定する方法で検した。上記 VRS の定量に用いた魚肉水浸出液は天野の規定する試料液に合致する。

d. pH の測定

上記魚肉水浸出液について HRL H 型 pH メーター，Merck 製および東洋沪紙製 pH 試験紙によつて比較測定した。

1. 電気冷蔵庫内における魚肉の乾燥と鮮度

電気冷蔵庫内の空気は乾燥状態にあるため庫内に保蔵した食品は水分を失ない変質するものである。魚肉を長時間保蔵した場合この乾燥性がどの位 VBN および VRS に影響を与えるかを知るために魚体をポリエチレン製防湿袋で被覆したものと被覆しないものとについて鮮度を比較観察した。その結果は Table 2 のようであつた。

Table 2. Change in moisture, VBN and VRS during storage in refrigerator at 3~5°C with cover or non cover.

	Time of storage	0 hr	8 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	3 days	7 days	14 days
A	Moisture %	79.21	78.11	78.01	76.56	76.42	76.37	66.50
	VBN mg%	9.52	10.95	18.65	21.84	22.37	25.59	38.85
	VRS meq/100g	1.62	1.50	2.75	3.25	3.20	3.25	3.75
B	Moisture %	79.16	78.95	78.47	78.14	77.62	78.44	78.34
	VBN mg%	—	—	—	24.30	24.45	25.59	49.78
	VRS meq 100g	—	—	—	3.25	3.25	4.13	4.75

A: non cover　B: covered with polyethylene sack

Table 3. Change of freshness of fresh flesh during storage at 3～5°C.

Hrs. of storage		0	8	24	32
Moisture	%	79.21	78.11	78.01	77.43
pH value		6.2	6.0	6.2	6.3
$HgCl_2$*	ppt.	±	±	+	+
$HgCl_2$+HAc**	ppt.	−	−	−	±
VBN	mg%	9.52	10.95	18.65	19.72
VRS	meq/100g	1.62	1.50	2.75	2.90

* 1% $HgCl_2$ solution
** 1% $HgCl_2$ in 0.05% HAc solution.

Table 4. Change of freshness of fresh flesh during storage at 30°C.

Hrs. of storage		0	8	24	32
Moisture	%	79.25	77.51	77.29	76.74
pH value		6.2	6.3	6.4	7.0
$HgCl_2$	ppt.	±	+	+	+
$HgCl_2$+HAc	ppt.	−	−	+	+
VBN	mg%	9.52	16.88	24.00	56.00
VRS	meq/100g	1.62	2.25	2.75	3.25

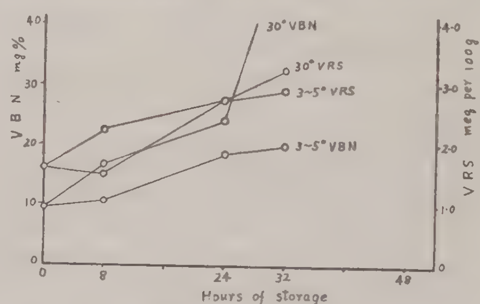


Fig. 1. Increase in VBN and VRS in fresh flesh with storage at 3～5° and 30°C.

2. 魚の保蔵温度と鮮度の時間的変化

試料フナ3尾づつを1群として2群に分かち，一群は 30°C の定温器中に，他の一群は 3～5°C の電気冷蔵庫中に何れもポリエチレン袋で被覆して保蔵し腐敗の進行状況を観測した。その結果は Table 3, 4, Fig. 1 の通りである。

3. フナの塩蔵温度と鮮度の時間的変化

試料フナ3尾づつを一群として2群に分かち，一群は 25°C の定温器中に，他の一群は 3～5°C の電気冷蔵庫中に各群何れも約 23% 食塩水（蒸溜水 1l 中に局方食塩 300g を溶解したもの）中に浸して立塩とし，筋肉中への食塩の滲透状況および脱水変化と併せて鮮度の変化を同時に観測した。食塩の滲透量は実験魚肉の一部を灰化してまづ灰分を定量し，次にその灰の温水浸出液中の塩素イオンを 0.1N 硝酸銀溶液で滴定してこの値を食塩量に換算し，魚肉 100g 中の食塩の g 数で表わした。灰分を定量したのは塩漬前後の灰分量の差が食塩の滲透量に一致しているかどうかを検するためである。実験の結果を Table 5, 6, Fig. 2 で示す。

Table 5. Change of freshness of brined fish during storage at 3～5°C.

Hrs. of storage		0	8	24	48
Moisture	%	80.11	77.88	73.09	68.49
NaCl	%		6.03		16.22
pH value		6.4	6.4	6.2	6.2
$HgCl_2$	ppt.	±	+	+	+
$HgCl_2$+HAc	ppt.	−	+	+	+
VBN	mg%	5.41	8.10	10.79	10.79
VRS	meq/100g	0.75	1.00	1.00	1.12

Table 6. Change of freshness of brined fish during storage at 25°C.

Hrs. of storage		0	8	24	48
Moisture	%	80.11	72.48	70.21	67.83
NaCl	%		5.71	12.24	17.06
pH value		6.4	5.4	6.2	6.2
$HgCl_2$	ppt.	±	+	+	++
$HgCl_2$+HAc	ppt.	−	+	+	+
VBN	mg%	5.41	13.15	16.17	19.94
VRS	meq/100g	0.75	1.50	2.50	3.00

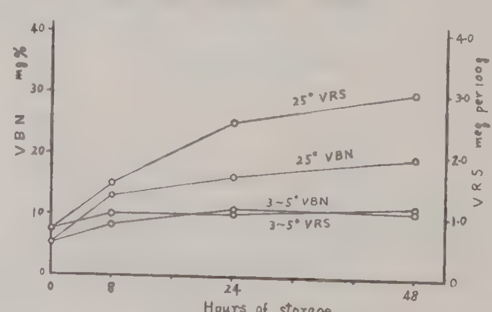


Fig. 2. Increase in VBN and VRS in brined flesh with storage at 3～5° and 25°C.

考　　　　約

揮発性還元物質の本体は何であるかまだ実験的に確かめていない。非常に鋭敏な酸化力を持つアルカリ性 $KMnO_4$ 溶液を還元する物質はこの場合有機性魚臭成分および腐敗に伴なう魚体成分の有機性分解生成物，揮発酸および揮発性アミンの類であろう。また当研究室で行なつたような水蒸気蒸溜法では油脂の酸敗生成物はもちろん魚油の一部も溜出してくるに相違ない。これらの物質は何れも魚の鮮度だけでなく風味にも関係あるものである。VRS の測定によつてこれらの物質が綜合的に数値で表わされることは FARBER も指摘しているように食品を判定するのに非常に便利であると思う。魚肉は死直後から硬直，自己消化及び腐敗えと経過するにしたがつてその pH は逐時中性より酸性へそして再び中性を経てアルカリ性の方へ移動変化することは周知のことである。したがつて魚肉水浸出液が酸性であるかアルカリ性であるかによつて溜出物の成分の種類及び量の割合も異つてくることであろう。しかし実際には pH の変化は僅少であり，特にフナにおいては Table 3, 4 で見られるように pH の変化はほとんど起らない。甚しい悪臭を放つ時になつて始めて pH は 7 以上の値を示す。それゆえに水蒸気蒸溜に当つて魚肉水浸出液の pH の調整を行なわなかつた。また蒸溜の最初と終期とで溜出物質の差異のあることもうかがわれるので蒸溜時間を比較的長く 20 分と定め溜出液を 150 ml とした。初溜部分に，におい成分に関係ある物質が存在するかまたは腐敗に関係ある物質が含まれているかは不明であるが，何れにしても溜出液を多量に採ることによつて品位と鮮度との両者に関係ある VRS が充分に採取できていることと思う。この溜出液の量と蒸溜時間とをどの位にすればよいか今後の研究に俟つこととする。今回の定量条件では VRS は VBN とほぼ併行するが，VRS の方がより鋭敏である。しかも魚肉 100g 当りのミリグラム当量で表わすと数値が 3.00 以上の場合は悪臭を伴ない品位の低下していることがわかる。特に塩漬魚の場合 VBN の測定だけでは鮮度判定は充分でないことがわかる。(Table 5, 6, Fig. 2 参照)

天野法による $HgCl_2$ 沈澱反応はフナの場合刺殺直後の場合でも陽性であつた。死直後の魚肉の pH は 6.2 であつて $HgCl_2$ により白濁の生ずることもうなづけるが，その後 6.0 になつてもなお陽性である。淡水魚は海水魚よりも筋肉中水溶性蛋白質が多く存在するということはない。恐らく体質の差異に基くものと思われるが，他の多くの淡水魚について実験調査しその原因を究明したい。ただフナについては $HgCl_2$ 沈澱反応が陽性であるからといつて腐敗初期の状態にあると断定することはできない。

電気冷蔵庫内で 3～5°C で生魚を長時間保蔵する場合ポリエチレン袋で被覆しない場合は表皮は非常に乾燥して外観は悪くなるが 5 日以内ならば表皮下の筋肉部の水分含量にはそれ程大きい変化はない。1 週間を過ぎると被覆してある方は水分が多量保持されているだけに腐敗が速くなり，明らかに腐臭を発生する。被覆のあるなしにかかわらず VBN から見た鮮度は 3 日目でもそれ程悪くなつているとは思われないが VRS の値は非常に高く腐敗初期に達していた。淡水魚は海水魚よりもにおい成分の発生が強いためであろう。この事実と $HgCl_2$ 沈澱反応の異常との間に何か関係があるのではなかろうか。

淡水魚独特の異臭の除去と防腐との目的を兼ねて最も原始的な塩蔵を試みた。特に高濃度食塩水を用いたのは淡水魚の腐敗が速いから速かに食塩の滲透を望んだためである。3～5°C の低温で塩蔵した場合はさすがに VBN も VRS も非常に低い値であつた。25°C の場合は VRS の値は VBN に比して上昇率が大きかつた。25°C で 48 時間塩蔵した場合の VBN, VRS の値は生魚を 3～5°C で 32 時間保蔵した場合に匹敵する。(Table 3, 6 参照)

要　　　　約

1. 魚肉の水浸出液について水蒸気蒸溜法で VRS を定量する方法を考案し，VBN 測定値と対比した。
2. 電気冷蔵庫内で生魚を保蔵する場合魚体をポリエチレン袋で被覆することが鮮度に与える影響を検した結果 5 日以内では被覆の有無に大した影響はなかつた。
3. 天野の $HgCl_2$ 法は淡水魚の場合適用することができない。

4. フナの生魚は 3～5°C で 48 時間の保蔵に堪えるが 30°C では 24 時間で腐敗初期となつた。
5. 23% 食塩水で塩蔵したフナは 25°C では 48 時間で VRS は 3 meq に達し腐敗初期となつた。
6. 淡水の生魚及び塩蔵魚にともに VRS の方が VBN よりも鋭敏にかつ官能検査に相応した鮮度判定を与えた。

文　　献

1) 黒田栄一・毛呂恒三: 滋賀大学芸学部紀要 自然, **3**, 26 (1954).
黒田栄一・岡崎宏子: 同上, **4**, 22 (1955).
黒田栄一・林 宏子: 同上, **5**, 81 (1956).
2) 小幡弥太郎・座間宏一・山西 貞: 本誌, **15**, 407 (1949).
3) 天野慶之: 東海区水研報告, **1**, 1～136 (1950).
4) FARBER, L.: *Food Technol.*, **6**, 319 (1952).
FARBER, L. and FERRO, M.: *ibid.*, **10**, 303 (1956).
FARBER, L. and PETER, A.: *ibid.*, **12**, 677 (1958).
5) 富山哲夫・井出克巳・私山 勉: 本誌, **17**, 191 (1952).

抄　　録

漁業管理についての生物学的および経済学的な考え方　M. B. SCHAEFER: *Trans. Am. Fish. Soc.*, 88, 100〜104 (1959).　海洋漁業の管理は，水産資源からの人類の利益を長期にわたつて最大にすることにある。人類にとつて何が最も利益あるかは生物学的ばかりでなく経済学的な問題を含んでいるので，資源および持続生産量に対する漁業の影響を経済学上の要因と関連さして考えてみる。

定常状態において漁獲努力が増えるにつれて資源量は減小する。これに対して漁獲量は，ある漁獲努力量 E_m までは増えるが E_m 以上では逆に減小する。資源学的には E_m に対するものが最大持続生産量である。

しかしながら漁民は魚のためにではなく，ドルのために漁業しているのであるから，漁獲努力，漁獲物の価格および操業の経費の3者の関係を考えねばならない。魚の価格弾力性は大きいので E_m において漁獲物の価格も最も大きい（抄録者註：日本の事情とは異なる）。操業の経費は漁獲努力の増大につれて大きくなるが3通りのばあい考えられ，まず未利用資源については操業の経費は常に漁獲物の価格より高く，つぎに不完全開発資源については E_m 以下の，ある漁獲努力の時に操業の経費と漁獲物の価格とが等しくなり，第3に濫獲資源については E_m より大きい漁獲努力の時に等しくなる。このことから最大経済生産量（漁獲物の価格の操業の経費の差を最大にするもの）は明らかに E_m より小さい漁獲努力である。ゆえに一般的には最大持続生産量とは相互排反的であるといえる。しかしながら濫獲資源のばあいには資源に対する所有権の制限などの手段があつて操業の経費を増やさないように漁獲制限，漁獲規制が行なえるならば，最大経済生産量と最大持続生産とを一致さすことは可能である。（土井）

漁獲量の比較のための平均値と中央値　J. B. MOYLE and R. LOUND: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 89 (1), 53〜58 (1960).　刺網や Trap による漁獲量の分布は標準偏差が大きく，分布も歪んでいて，ふつうの正規分布にもとづく手順で平均値の差の検定や推定をするのは適当ではない。著者等はポアソン分布を含めた統計学的な検討の結果，parametric な方法としては魚の二項分布による方法，non-parametric な方法としては中央値を用いる方法が適当であることを確めた。

二，三の湖水での刺網や Trap でとられた数種の魚の漁獲数の分布は負の二項分布によく近似し，その *dispersion index* $\frac{1}{K}\left(K=\frac{M^2}{\sigma^2-M},\ M\text{: 均平値},\ \sigma^2\text{: 分散}\right)$ の大きさは Trap による Bullheads と Green sunfish では1と2の間に，刺網による Northern pike と Walleye では1より小さかつた。魚の二項分布は $y=\log(x+K/2)$ という変数変換を行えば正規分布に近似する。著者等は $1/K$ が 1, 0.5, 0.2, 0.1 で漁具数（データの数）が 2〜50，平均値が 1, 5, 10 のそれぞれの場合について信頼度 80% の母平均の信頼限界を与える表を作つた。数学的な正確さという点では魚の二項分布が最も適当である。

また，中央値を用いる non-parametric な方法は漁具数が少く，大部分の漁具の漁獲のある場合に大きな効果を示す方法で，この場合にも標本間および母中央値との比較検定のための数表を与えた。

（能勢）

トロールネットの網目の決定　F. M. DAVIS: *Fish. Invest.*, 21 (8), 154〜156 (1958).　トロールネットの cod-end の適正目合は cod-end に残つた魚の体長を測定することによつて知られるが，実際の試験方法として，つぎの三つの方法がとられている。1) 異つた網目の cod-end をつけた2つの網を1隻の船により交互に曳く方法，あるいは2隻の船により同時に平行して曳く方法。2) cod-end を，更に細かい網目の袋でゆるくカバーする方法。3) ズボン式トロールネットの方法。1) の方法はかなり回数を多く行なう必要があるので，主として 2) の方法が採用されている。この場合，適正目合という言葉を明確にするために，cod-end に半数が留まり，半数が通過した場合の漁獲物の体長，(50％通過体長) を基準に用いた。すなわち，適正目合＝50％通過体長÷常数となる。常数（選択指数）は体長と体囲との比で示される。例えばヒラメの選択指数は体囲が体長に比較して大きいので 2.0 をやや上廻る程度，Hake ではそれに反し 4.0 ぐらいである。最近の報告 (1955) によると，北海の重要魚について選択指数はつぎのように示される。

魚　種	トロール		綿曳網
	マニラ，サイザル	綿　麻	
Plaice	2.2	(2.2)	(2.2)
Sole	3.4	(3.4)	(3.4)
Haddock	3.2	(3.5)	3.9
Cod	3.0〜3.5	—	—
Hake	3.5〜4.2	3.6〜4.2	—
Whiting	3.4〜4.0	4.1	4.1

（ ）は資料数が少ない場合　　（井上）

魚函の衛生—I. 木製魚函の細菌の種類と量　R. SPENCER: *J. Appl. Bact.*, 22 (1), (1959).　魚市場で使用される木製の魚函は普通水で洗浄される

が，この洗浄効果はきわめて低く，たとえ高圧で水を噴出させても同様である。魚函洗浄後の検査では魚函の内部の細菌の数は，$20\times10^6/cm^2$ であり，また，洗浄時間を延長しても効果を挙げることは困難であつた。細菌の種類としては，*Coryneform* の菌は全細菌の 50% 以上を占めるが，これらの細菌は余り鮮魚や腐敗魚肉にはみられないものである。その他の菌としては，*Achromobacter* と *Pseudomonas* とがそれぞれ 18% と 14% とを占め，極く少量の *Micrococci* と *Flavobacteria* もみられた。細菌の検査に当つては，roll tube とシヤレーが用いられ，培養は 0°, 20°, 37°C の温度でなされ，培地としては海水と水道水が用いられたが，このような条件の違いは，検査の結果にも当然相違を生じた。(井上)

Clyde 湾 (スコットランド) のニシン H. WOOD, M. A., Ph. D., F. R. S. E.: *Marine Reseach*, No. 1 (1960). Clyde 湾のニシンについて解析した結果，つぎの結果が得られた。当才魚(指の長さ程度)は恐らく man 島で秋に産卵された群と Ballantrae 湾と Arran の南海岸の産卵場で春に産卵された群であるが，漁獲の対象になるのは，これらの群が1才半ないし2才の時，すなわち，$7\frac{1}{2}$～$8\frac{1}{2}$ インチに達した3年目の秋を冬であり，主に巾着網で漁獲されるが，1～3 月には刺網も使用される。これらの群のうち，一部は3年目の終りに産卵し，一部は4年目の終りに，また残りは5年目の終りまでには産卵するが，産卵が終るまで湾に留まることが考えられる。産卵が終つた群は，Ireland と Mull of Kintyre の間の水道を通つて湾を離れるが，そのうち一部は再び産卵のため Clyde 湾の産卵場に戻つてくると信じられている。しかし，他のものは，Donegal の北西海岸に新らしい産卵場を発見するようである。通常，3月下旬頃，産卵が終つた成熟群は，産卵のため分散するので，漁業はもつぱら未成熟群を対象としなければならない。しかし，1才半ないし2才のニシンが巾着網の対象となるまでに成長する秋～冬までの期間には，幾らかの群が他の海域から来游し，Clyde 湾の漁業を成り立たせる。したがつて，Clyde 湾の漁業にとつて，秋から冬にかけてあらわれる中型ニシンはきわめて重要な資源である。(井上)

甲殻類ノープリウス幼生の游泳と摂餌 D. T. GAULD: *Proc. Zool. Soc. Lond.*, **132** (1), (1959). ブラインシュリンプ (*Artemia*), フジツボ (*Balanus*), 撓脚類 (*Calanus, Temora, Euchaeta, Acartia, Oithona*) およびオキアミ類 (*Meganyctiphanes, Thysanoessa*) のノープリウス幼生の摂餌と游泳について研究が行なわれた。上述のすべての幼生において，第2触角が基本的な運動器官となつており，第1触角は運動器官としてはほとんどその機能がなく，主として体の平衡を保つ器官としての役割を果している。*Artemia* では第2触角はまた主要な集餌器官となつている。すなわち水中の粒子は第2触角の剛毛によつて口部に集められ，さらに大顎の棘で口まで運ばれる。*Balanus* と多くの浮游性撓脚類では，基本的な集餌器官は大顎であり，粒子は大顎の長い剛毛で口部まで集められ，それから棘で口に運ばれる。*Penaeidae, Euphausiacea, Euchaeta* のノープリウス幼生は，この期間摂餌を全く行なわない。(平野礼)

魚類における成群行動の生成 E. SHAW: *Physiol. Zool.*, **33** (2), (1960). 魚類における行動の型が，いつからまたどのようにして表われてくるかということが判れば，その行動の発現を規正している外的および内的環境の実態を明確にし得るのに役立つ。この考えに基いて *Menidia menidia* および *M. beryllina* の孵化直後 (体長 4.5 mm) から4週間 (体長 14～16 mm) にわたつて実験室内で飼育を行ない，その成群行動の発現の様相を詳細に追究した。その結果，視覚が発達してくるにつれて成群行動も現われてくるが，水流は群の中における魚の方位性を維持するためには必ずしも必要な刺戟ではないことが判つた。また自然条件下における同種の魚の生態も観察され，体長 12 mm 以上のものが群を作ることが明らかにされた。一方，発生の初期から全く単独に孤立して飼育されたものは，生残率がきわめて悪く，生き残つて 15 mm に成長したものも，同じ体長の群に投じた場合なかなか混合せず4時間後に至つてはじめて群の完全な一員となつた。(平野礼)

海産硬骨魚の稚魚の飼育と眠りの必要を示す実験 S. Z. QASIM: *Nature*, **175** (4448), 217～218 (1955). *Blennius pholis* L. と *Contronotus gunnellus* (L.) を用いて，孵化後の稚魚の生残割合が餌の種類と照明の条件によつて変化することを述べている。25 *l* の海水を入れたつり鐘形のガラス器に 50 尾宛の稚魚を入れ，小さな気泡を含んだ水流で水を緩やかに循環させ，いろいろな条件の照明や，餌で飼育した。死亡した稚魚は毎日取り揚げて生残割合を算出した。実験の結果稚魚の生残割合は餌を与えないで飼育したものがもつとも低く，これについで鞭毛虫を与えて連続点灯して飼育したもの，*Artemia* のナウプリウスを与えて連続暗黒にして飼育したものの順で，結果はいずれも良好でなかつた。これに対して *Artemia* のナウプリウスを与えて連続点灯して飼育したものはやや良好な結果を示し，さらに点灯と暗黒とを交互に繰り返して飼育したものは活発に餌をとり，生残割合は最高を示した。(石渡)

Northern Anchovy (Engraulis mordax) 仔魚の餌 Leo BERNER, Jr.: *Inter-Amer. Trop. Tuna. Comm. Bull.*, 4 (1), 1～22 (1959). 供試仔魚は 1954 年 California から Baja California の沿岸で実施されたカリホルニヤ海洋漁業共同調査のプランクトン採集によつて得られ，5%ホルマリンで固定後 95% グリセリンで透化し，検鏡，解剖を行なつ

た。食道には膨脹した部分が多くの個体に認められたが餌は見出されなかつた。仔魚は成長に伴つて大型の餌を摂る傾向があるが広食性が失なわれることはない。甲殻類，とくに種々の発育期の *Copepoda* が主な餌として出現した。最も個体数の多い 3.75 mm 階級の小型群が最しの摂餌率を示したが他のニシン科魚類仔魚と同じく全体の摂餌率は低く13,620個体中 211 の摂餌個体（1.5%）が認められた。薄暮を含む昼間に採集された個体の摂餌率は夜間の10倍に達し，総摂餌個体の 95% が昼間に採集された。全て摂餌個体は餌の濃密域である Pt. Conception および Pt. Eugenia 南方海域にのみに出現した。本調査中 15 mm 以下の多数の個体が不完全な状態で固定され，その大部分は目が脱落し軟弱であつた。肝臓の状態は採集時の仔魚の状態を知る良い指標となる。ニシン科魚類の仔魚期における低摂餌率について消化速度，摂餌時刻，大型仔魚の逃避等の面から多くの論義がなされているが，飼育実験によつてそれらを確める必要がある。（鈴木秀弥）

パナマ湾における Anchoveta, Cetengraulis mysticetus（Gunthe ）の卵，初期生活史および産卵海域　JOHN G. SIMPSON: *Inter-American. Tropical. Tuna. Commission.*, **3** (10) 1959.
Anchoveta の卵はその大きさ，産卵時刻，出現時期，出現量の相違により区別される。卵は浮性，半透明で長径 1.166 mm，短径 0.558 mm，の楕円形である。卵膜は無構造，卵黄に亀裂あり，油球なく，色素が認められる。1957 年1月中旬から9月まで卵は採集されず，親の卵巣は未熟である。産卵時刻は 0130～0430 の間である。卵発生は水温 25°～30°C において約 20 時間（実験室内）で孵化，仔魚の発育を孵化後 90 時間まで観察した。卵黄は 36～42 時間で吸収する。海中では孵化近い卵や仔魚は表層に殆んど出現せず，むしろ中層で孵化する。後期仔魚や幼魚（約 35 mm まで）は底棲で，成魚より遙かに沖合においてトロール網で採集される。主産卵海域はパナマ運河口と Punta de Brujas の間の海岸沿い約 70 浬の泥底で産卵は3尋以下の浅い沿岸水域の狭い地帯で行なわれる。卵は汐や流れのため，かなり拡散され6浬沖まで見られる。産卵期は 1956 年 10 月中旬より 1957 年1月中旬で，12 月中旬の最盛期まで産卵量は増加し盛期に達すると急に衰える。産卵盛期には Anchoveta 卵は全 Anchovy 卵の 90% を占める。Anchoveta と同時刻に産卵する Anchovy が唯一種あるが，その卵は僅かに小さい。他の8種は産卵時刻が異ることにより区別される。（渡部）

池で育つた *Salmo trutta* L. の洄游本能（ポーランドにおける研究）　V. M. NAUMOV: *Vaprosy Ikxtiologii*, **12**, 141～143 (1959).　近年，ダムの建設に伴つて，河川放流用の稚魚を得ることを目的とした *Salmo* の池中養殖試験を行なう必要が生じてきた。ここで，問題になることは，池中生活が，果して洄游本能に影響することがないかどうかということである。ポーランドのクラカウ市郊外にあるヤゲロンスク大学の養魚実験所が，この研究を行なつている。川に溯つてくる魚の卵を使つた池中養殖第1世代，これの卵による第2世代，さらに陸封性の *S. trutta morpha fario* との雑種第 1，2 世代を，それぞれ標識して，川に放流した。その結果は，SKROCHOWSKA ('51, '53) によつてまとめられているが，つぎの2つの結論が示されている。1)池で育つた *S. trutta* では，第2世代までは洄游本能が失なわれないが，第3世代では，この本能が失なわれ，放流した魚は，川にとどまる。2)陸封型との雑種では，第2世代で《分離》が見られる。すなわち，洄游本能を保つ個体と，失なつた個体とに分れる。（児玉）

チシマクロノリの細胞学的研究　V. KRISHNAMURTHY: *Ann. Bot., N.S.* **23** (89), 147～176, Pl. 1～2 (1959).　チシマクロノリ（*Porphyra umbilicalis* (L.) KÜTZ. *var. laciniata* (LIGHTF.) J. AG.）の生活史を正確に理解するために生活史の全過程にわたつて細胞学的に追究した。その結果，Leafy-phase, Conchocelis-phase のどの過程にも減数分裂はみられず，染色体数は常に5で単相であることを確めた。Bertholn (1882) 以来，*Porphyra* においても真正紅藻類にみられるような有性生殖が行なわれると考えられてきたが，受精の形跡も，それをうらづける細胞学的証拠もないので *Porphyar* の有性生殖は疑わしい。また，これまでの見解に反して *Porphyra* の核は高等植物にみられるような構造を示し，有糸分裂を行なう。この核分裂の仕方は Conchocelis-phase の糸状細胞でも fertile cell-row の細胞においても本質的に異ならない。なお，培養したチシマクロノリの Conchocelis-phase には fertile cell-row や plantlet を生じたが Conchospore の放出はみられなかつた。材料の固定には氷醋酸アルコール，フォルマリンアルコール，フォルマリン醋酸アルコールを，染色にはアセトカーミン，鉄明バンヘマトキシリン，ブラジリン，クリスタルバイオレットを用い Feulgen 核反応もあわせ行なつた。プレパラートは押潰法，パラフィン法によつて作つた。（三浦）

サケ属の起源と種の分化　F. NEAVE: *Trans. Roy. Soc. Canada*, Seris III, **52**, Sec. V, 25～39 (1958).　サケ属（*Oncorhynchus*）は，形態，生態ともニジマス属（*Salmo*）に酷似し，サケ属内の6種は，形態的，生態的に差異が少なく，種間交配も人為的に可能であつて，種の分化程度は低い。現在，サケ属は，Bering 海を含む北太平洋地域と北極海に生息し，大西洋には存在していない。50～100 万年前，鮮新世後期と洪積世初期の間，太平洋と大西洋の生物相の交流があつたとき，大西洋のニジマス属が太平洋に移つてきた。これらニジマス属の一部は，北米沿岸よりも地形の複雑なアジア沿岸

で，洪積世中数回にわたる海進海退によつて，地理的に隔離され，このため，ニジマス属からサケ属が分化し，さらに，種の形成へと進んだ。その後，アジア沿岸で分化したサケ属は，北米沿岸へと分布を拡大していつた。

地理的隔離が除かれたことによつて，近縁種と接触したとき，種間交配によつて種の消滅をきたさないためには，接触する以前から種間交配を妨げる機構が発達していなければならない。サケ属の種の分化過程において，地理的に隔離された群ごとに，産卵時における形態，色彩の相違が先ず形成された。この相違によつて，産卵時魚は同種を選択するため種間交配が行なわれず，種の分離が保たれてきた。（野村稔）

好熱細菌の生長と芽胞形成に対する酸素の影響 S. K. LONG and O. B. WILLIAMS: *J. Bact.*, **79** (5), 625～628 (1960). 中温菌の生長と芽胞形成に対する通気の影響については多数の報告があるが，高温菌についてはあまり検討されていない。従来の文献によると，高温においては酸素ガスの溶解性が減少するために，酸素要求度は中温菌より高いという。*B. stearothermophilus* を用いて実験した結果によると，37°C ではたしかに通気量の増加するほど生長率も高く，芽胞形成率も高くなる。しかし 55°C 培養では，芽胞を接種した場合に，全然通気しない場合にだけ僅かに発育するが，通気すると全く生長を示さず，したがつて芽胞形成は全く見られない。栄養菌体を接種しても，通気により僅かに生長率が高くなるだけで，芽肥形成を示さないで溶解してしまう。このような結果のうち生長については，高温による酸素の難溶性で説明できるが，他は説明できない。通気はむしろ発芽と芽肥形成に対して毒作用をおよぼすのではあるまいか。事実 55°C で酸素を吹込んだ場合には発芽と生長を完全に阻害してしまう。（横関）

タラ筋肉の蛋白質分解とアミノ酸の変動に及ぼす食塩の影響 E. BILINSKI, H. FOUGERE: *J. Fish. Res. Bd. Canada.*, **16** (5), 747～754 (1959), 食塩濃度 4, 8, 12, 16%に調製したタラ肉を，15°C と 25°C に放置し，化学成分の変化を調べている。筋肉蛋白質の加水分解は 12% と 16% の食塩濃度では完全に阻止されるが，8％食塩濃度においては 25°C では漸次分解し，4％食塩濃度ではほとんど阻止効果はない。蛋白質分解の認められない貯蔵初期においてアミノ酸が増加するが，これはペプチッドの分解によるものと考えられる。α アミノ酸の脱アミノ作用によるアンモニアの生成は，食塩濃度 16%，放置温度 15°C の場合のみ阻止されるが，他の条件では脱アミノ作用が進行する。すなわち，8％食塩濃度，放置温度 25°C では，当初遊離アミノ酸は減少するが，その後蛋白質の分解がはじまると増加し，一方4％食塩濃度の場合には，遊離したアミノ酸分解によるアンモニアの生成が早い。生肉ではトリメチルアミンの生成が非常に多量になつたときに脱アミノ作用がはじまるが，この食塩添加肉ではトリメチルアミンの少いときにおいても脱アミノ作用が認められる。インドールは8％およびそれ以上の食塩濃度では生成せず，したがつて一般塩蔵魚においてはインドール生成はないものと考えられる。（尾藤）

皮膜状の L-ミオシンおよびアクトミオシンの物理的性質におよぼすアデノシン-3-燐酸の影響 D. F. CHEESMAN, M. MARIE, KEELER and O. STEN-KNUDSEN: *Biochem. J.*, **72** (2), 357～365 (1959). 空気と水の境界面に膜状になつた L-ミオシンおよびアクトミオシンは，その膜の拡り方が不完全な時，本来の蛋白質分子が結合して，その物理的性質に影響を与える。

このような膜がアデノシン-3-燐酸(ATP) 0.1mM を含む塩化カリ溶液上につくられると，ATP はその機械的な力を著しく減少させ，膜面積は大きくなる。この効果は，同濃度の ADP やイノシン-3-燐酸では見られず，p-chloro-mercuribenzoate で阻害される。

L-ミオシンについて見ると，その効果は，2,4-dinitrophenol, ethylendiamine-tetra-aectate, fuadin で減少または阻止される。アクトミオシンでは，この影響は fuadin で強められ，2,4-dintrophenol, ethylendiamine-tetra-acetate で膜を硬化する働きに変わる。

Ca^{++} イオンは両蛋白に対する ATP の影響に変化を起させない。Mg^{++} イオン (0.01 mM) は ATP が存在する場合，両者の膜を硬化するが，このイオン濃度が一層高くなると，柔軟性が再現する。

時間の経過した，または加熱したアクトミオシン溶液は，ATP で硬化された膜を生ずる。

ATP は少くとも二つの様式でアクトミオシン膜と反応し，その一つは蛋白質の燐酸化を伴うものである。膜状ミオシンにおよぼす ATP の影響は，酵素一基質複合体の形成，と説明ずけられる。

このような現象は多くの論議が行なわれている生体筋肉収縮が主として ATP によるアクトミオシンの燐酸化によるものであるという説と関係深く興味ある問題である。（大竹）

雑　　録

○ 8月編集会議

期　日　8月 26 日　午後2時

場　所　東京水産大学会議室

出席者　編集長以下　16 名

議　事

a．投稿規定を次のように改正する。

1．著者初校の期限を，学会より発送し返着まで 10 日間とする。

2．二校以降にて著者が著しく改校した場合は著者負担とする。

b．理事会構成員について試案を審議した。すなわち現在の編集理事（36 名のうち東京 24 名）を編集理事 10 名と編集委員 26 名とに区分し，編集理事は在京者とし，その配分を水大 4，東大 2，東水研 2，その他2とし，理事会には編集理事が出席する。編集会議についてはさらに案を練ることとし一応これらの経過を理事会に報告することとした。なおこの改正は会則の変更を伴うので会則の変更案は小委員会を設けて作製することとした。

c．次回は9月下旬に開催することとした。

○ 8月理事会

期　日　8月 26 日　午後3時

場　所　東京水産大学

出席者　田内会長以下　22 名

議　事

a．会誌7号に公告したブラジル派遣候補者は締切日までに申込み者がなかつた。

b．原子力学会より，各学会共催連合会の案内がきているので会誌に公告することとした。（後記）

c．南海区水研所長より F.A.O. マグロ会議（1962 年開催）に出席しうるよう学術会議に推薦されたいと申込みがあつたが開催までに期日があるので後日申請することとした。

d．編集長より理事会構成員についての案（前出）が報告された。

e．秋期大会において編集会議を開くこととした。

○「第2回原子力研究総合発表会」案内

1．名　　称　第2回原子力研究総合発表会

2．開催時期　昭和 36 年2月 15 日（水）～18 日（土）の4日間

3．場　　所　神田学士会館（大集会室，北大食堂，南大食堂，中食堂）

4．実施要領

（1）Ⅰ研究発表，Ⅱ討論会，Ⅲ招待および総合講演に分けて日程を編成する。

（2）一般から募集するのはⅠ研究発表で，未発表の研究論文に限り予報的なもの，既発表に類似のもの，項目外のものは採らない。採否については論文選考委員会が決定する。

（3）研究発表の時間は原則として 15 分とする。

（4）Ⅱ討論会，Ⅲ招待および総合講演は運営委員会内の小委員会で企画立案する。

（5）プログラムの編成については運営委員会がこれを決定する。

（6）「要旨集」は発行するが，提出論文をまとめた「報文集」は刊行しない。

詳細のお問合せは，運営委員会（日本原子力学会気付）へお願いします。

○研究発表申込方法

（1） 研究発表希望者は，運営委員会（東京都港区芝田村町1の1・原研内 Tel. 591-5489 日本原子力学会気付）宛申出れば，所定の研究発表申込書，「要旨集」原稿用紙，執筆規程を送ります。

（2） 研究発表申込書の受付は 10 月 15 日～10 月 29 日（土）（期限厳守）です。

（3）「要旨集」原稿の提出は 11 月 19 日（土）までに必着で願います。

学 士 会 館
於 （東京神田一ツ橋） 12 月 7 日～10 日

○第 56 回学術講演会開催案内

12 月 8 日（木）（水産関係講演題目）

深海底の底層流に関する研究（第 1 報）……………………………………梶 原 昌 弘
深層海水の懸濁微粒子に関する研究（第 2 報）……………………………岡 見 登
水中における昼光の角度分布について（第 4 報）…………………………大 柴 五 八 郎
海洋観測のロボット化に関する研究（第 3 報）……………………………渡 辺 精 一
深層流測定用中立浮きの研究試作……………………………………………同 上

編 集 後 記

本記念号の発行に際し，多大の御援助を賜わつた年会委員長，投稿者，編集関係者各位に厚く御礼申上げます。ただ全く予想しなかつた支障のため最初の予定篇数のほぼ半分しか本号に収載し得ず，皆様の御期待に副い得なかつたことを誠に遺憾に存じます。ここにこの間の事情を申上げてお詫びに代えます。

5 月 13 日の理事会で本記念号発行が決定され，直ちに年会の講演者全部に投稿希望の有無を問い合わせましたところ，46 篇の申込みがありました。しかし出版費の関係で 30 篇程度に圧縮する必要がありましたので，6 月 10 日の編集会議において，申込期日に遅れたもの，題名と著者名が年会発表時のそれと異なるものを除き，一研究者 1 篇という線で調整し，31 篇に圧縮することができました。この結果は直ちに各申込者に通知しました。

ところが再三の予告にも拘わらず，締切の 6 月 30 日までの投稿は僅かに 17 篇にすぎず，その後事務局より大部分の未投稿者に連絡して頂いましたが，ついに 1 篇の投稿もありませんでした。この事態に対処するため，7 月 21 日緊急の編集会議を開催して協議しましたが，締切期日を延長して原稿を再募集することや，先に投稿をお断りした方を復活させることは，今後の出版計画に齟齬を来し，編集技術上無理なことが判明しましたので，不本意ながら予定篇数の約半分に過ぎない本誌を発行することに致しました。

以上のような事態を見透せなかつたために，投稿を辞退して頂いた会員各位，学会事務局，編集関係者に多大の御迷惑をおかけしましたことを深くお詫びいたします。ただ，今後投稿の申込みをした後に何らかの事情で投稿できなくなつた場合には速やかに編集長宛断りの通知を出して頂くことと，できればあいまいな場合は投稿の申込みを差しひかえて頂くことが望まれます。

なお，この機会を利用して編集関係者よりの希望を二，三申述べます。最近化学関係の投稿は順調ですが，「一般」のそれがかなり少なく，ある程度両者のバランスがとれている方が好ましいので，特に「一般」の投稿を歓迎します。7 月 25 日現在の手持原稿数は「一般」6,「化学」17 になつています。

つぎに，会員のなかには Synopsis, 図表の英文作製にお困りになり，これが投稿の妨げになつているむきもないと聞きますが，学会には所定の料金で英訳の添削をする制度が数年前から設けられております。現在その制度を利用される方は非常に少ないようですが，もつと気楽に利用されるようおすすめします。また余りひどい英文で投稿されますと編集理事が大へん骨折りますので，この点も御考慮下さい。

学会誌の方は現在綜説と抄録を充実させるよう努めております。学会誌をよりよくするため御気付の点は遠慮なく御申出頂きたいと存じます。（編集長）

STUDIES ON THE EFFECTS OF THE TAILINGS OF FLOTATION PROCESS TO THE COASTAL ORGANISMS.

Masaru FUJIYA*

(*Received May 28, 1960*)

Introduction

In recent years, the flotation process is applied in the refineries at many places, especially in Japan for the ore of poor grade. Then its waste water is thrown away into river or sea with much tailings. These are insoluble matter and sink to the bottom, affecting the coastal organisms to die or decrease in the production. Therefore, the studies on the effects upon these benthonic organisms, mainly shell-fish and sea-weeds in coastal area, were intended in this experiment.

Method

The experiments were done for the next items as follows;

1) On the shell-fish.

Venerupis semidecussata, one of the common clams in Japan was used as the material for this experiment. The calcium compounds in the water are usually absorbed by shell-fish as one of the necessary substances, so that the environmental condition was estimated by the quantity of calcium absorbed into it. The radioactive calcium was used for the indicator to recognize the calcium absorbed into the shell-fish. As calcium is the most important substance for the growth, the velocity of calcium absorption into it was observed to study the effects of tailings. Radioactive calcium used in this experiment was about $10\mu c/L$. and it was dissolved into the sea water mixed with the tailings in various concentrations, and the clam was cultured in such waters. After a while, it was resolved with nitric acid by wet ashing method, and the precipitation of calcium compound made from the solution with ammonium oxalate was gathered up through the filter on the pranchettes, according to the method already reported[1]. The quantities of calcium absorbed into the clams were measured by G-M counter for the radioactivity. On the way to determine the effective dose, when the proportion of the quantity of calcium absorbed decreases till 50 per cent to the normal one, the concentration of the tailing was estimated as the effective dose. The tailings were used in two ways, such as one was for the suspension and the other was for deposit in this experiment.

* Inland Sea Regional Fisheries Research Laboratory, Ujina, Hiroshima (内海区水産研究所).

2) On the seaweeds.

The experiments were done upon *Undaria pinnatifida* and *Ulva pertusa*. The velocity of phosphorus assimilation in these seaweeds was observed to study the effects of tailings, since the inorganic phosphorus is one of the most important substance to keep the sound life for many kinds of seaweeds. The phosphate (as the form of KH_2PO_4) which contained radioactive phosphorus (specific activity 1–2 μc/mg.) was added in the culture medium and they were reared in it. After a while, they were resolved with perchloric acid by wet ashing method, and radioactive phosphorus in them were measured by G-M counter and the activity of phosphorus assimilation was determined. It might be considered that these sea weeds affected by the tailings in the medium, when the proportion of the phosphorus assimilation decreased till 50 per cent of the normal, assuming this concentration the effective dose as in case of seaweeds.

3) On the distribution of plankton.

It is said when the tailings sink to the bottom, they make the deposit with other suspension like the plankton. So, the relationship between the contents of the tailings and the plankton in the water was studied, in vitro. The plankton was put in a glass cup of 500 ml. capacity containing the sea water with the various contents of the tailings. After standing for 2.5 hrs., the plankton contents were measured colorimetrically on the basis of the chlorophyll extracted with alcohol.

Results

1) On the shell-fish.

The quantities of calcium absorbed into the clam in normal sea water with the

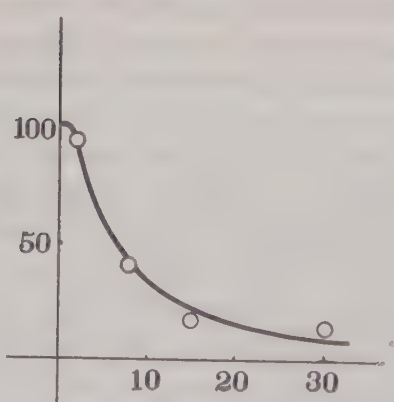


Fig. 1. The relation between the proportion of absorbed calcium into clam and the average of the tailings mixed in the water.

Table 1. Relation between the depth of deposit and calcium absorption of clam.

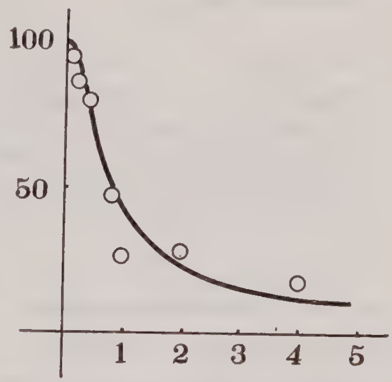
Depth of deposit	Ca-45 absorbed by clam	Ratio
cm	cpm/gr	
0	395	100
1	269	63
2	12	3
2.5	12	3

radioactive calcium was about 420 cpm per gram for wet weight in mean value, but when the tailings were added under mixing into the water, the absorbing quantities were observed to decrease gradually. The relation between the proportion of its quantity and the tailing contents in the water was shown in Figure 1. In the figure, it is estimated that the effective dose of the tailings to the calcium absorption of the sell-fish was about 6.5 per cent of medium water, but it must be problem that the decreasing rate of the curve was very high. On the other hand, when the clam was buried in settled tailings, the result was shown in Table 1.

2) On the seaweeds.

i) Effect upon *Ulva pertusa*.

The quantity of phosphorus assimilated by the Ulva in normal sea water which added with about 10 μc/L. of radioactive phosphorus was 28 cpm per gram for wet weight in mean value, but it is observed the quantity assimilated in sea water mixed with tailings was on the decrease. The relation between decreasing of the phosphorus contents and quantity of the tailings mixed in the water were shown in Figure 2. It shows an influence to phosphorus assimilation when the tailings were added 0.75 per cent to the water, and the proportion to the normal case decreases till 50 per cent.



The average of the tailings mixed. (%)

Fig. 2. The relation between the proportion of phosphorus assimilated by the Ulva and the average of the tailings mixed in the water.

ii) Effect upon *Undaria pinnatifida*.

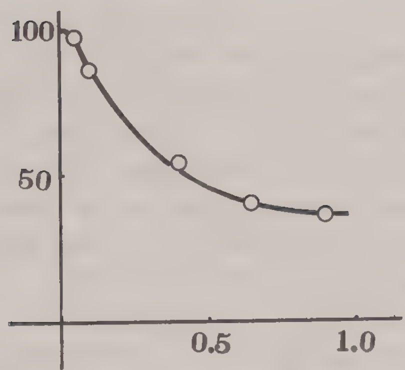
At first, the preliminary experiment was intended for *Undaria* which has the stalk part and leaf part, as there might be any difference in assimilating character between the distal and the proximal part on a leaf. The comparison of each part resulted as follows;

The distal part	105 cpm/g. (wet weight)
The proximal part	85 cpm/g. (wet weight)

It is considered that there was little difference between the two parts, but only distal part of leaf was used in this experiments. The relation between the proportion of phosphorus assimilated by *Undaria* and the tailing contents of sea water was shown in Figure 3. The effective dose of the tailings would be evaluated at approximately 0.4 per cent of water.

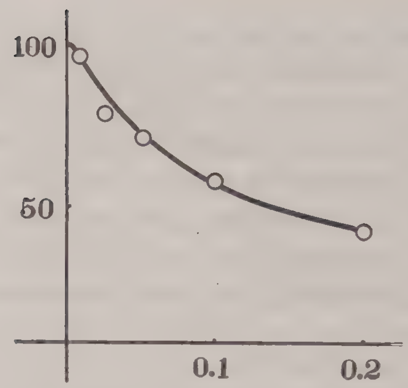
3) On the distribution of plankton.

The effect of the tailings upon the plankton distribution could be observed during deposition of the tailing to the bottom. The plankton in the water decreased with settling of tailings. The results were shown in Figure 4.



The average of the tailings mixed. (%)

Fig. 3. The relation between the proportion of phosphorus assimilated into Undaria and the average of the tailings mixed in the water.



The average of the tailings mixed (%)

Fig. 4. The relation between the average of the tailings mixed and plankton crops in the water after the tailings sunk up.

Consideration

On the shell-fish, it was not a normal condition for the shell-fish to be buried in the settled tailings, because even in only 1 cm. depth of it, the velocity of calcium absorption of the clam decreases to 63 per cent. Ellis[2] reported that almost all freshwater shell-fish could not spend the normal lives in 1/4 inch depth silt. Then, it could be estimated that the tailings settling to a thickness of about 1 cm depth would be the limiting depth for the shell-fish living. The suspended tailings give no effect upon calcium absorption by clam. So, it must give no effect upon the shell-fish in general. It is said that the concentration of tailings is not more than 2 per cent of water other than the places near-by outfalls in actual case. Consequently, it is considered that the problem of the tilings effect upon shell-fish was on the deposit type and scarcely on suspended one in actual case.

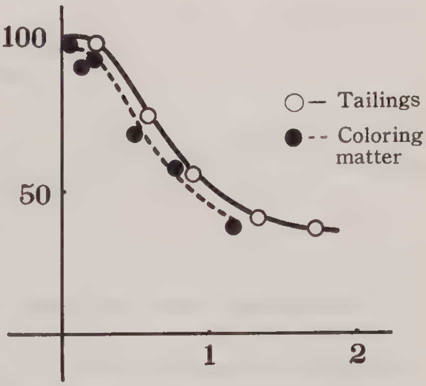
On the seaweeds, the effective doses of the tailings were recognized to the two kinds of seaweeds, *Ulva* and *Undaria*, the dose for former being 0.75 per cent and that to the latter 0.4 per cent. Then the experiment was done to study the cause of it on the relation between the phosphorus assimilation by the seaweeds and light penetration into the turbid water with the tailings or coloring matter similar to the tailings. According to the results shown in Figure 5, the phosphorus assimilated into seaweeds decreases with the coloring matter and also with the tailing. Therefore the effect upon seaweeds was seemed to be caused by decreasing of light penetration into water. However, as seaweeds live and grow on the rocks of sea bottom, it might be an anxious problem that these beds were buried by the deposit.

On the distribution of plankton, the decrease of plankton contents in the water was observed after settling of the tailings as shown in Figure 4. When much tailings were settled large quantity of the plankton might be sunk together, result-

ing a low density of them and, therefore, its density would go down in the area influenced by the tailings. It might be a very important fact for the aquatic animal life that in the area where the tailings were mixed only in 0.025 per cent of water, the plankton quantity of 22 per cent was lost with its settling, and no plankton was found where the tailings were in 2 per cent.

By the results above-mentioned, the effects of the tailing upon the coastal organisms would be estimated as follows;

On the shell-fish, the tailings of suspended type would give few influence to them other that the neighboring of outfalls, but its deposit type would affect on their physiological function when it reached more than 1 cm depth on the bottom.



The concentration of the tailings and coloring matter. (as shown absorbed coefficient: −log T)

Fig. 5. The comparison between the tailings and the coloring matter for phosphorus assimilation of the seaweeds.

On the seaweeds, it was presumed that the effective dose is 0.4–0.8 per cent of water and that the harm is caused by the decline of light penetration through water.

On the plankton distribution, although it could not be understood clearly, whether the decrease of plankton in the water of coastal area would give any harmful effect to fisheries products, it would not be favorable for the organisms that the plankton was on the decrease in sea water. Therefore the effect of the tailings to the distribution of plankton not be ignored in actual cases.

Summary

1) The effects of the tailings utilized in the flotation process on the shell-fish, seaweeds and plankton distribution were studied.

2) On the shell-fish, the tailings of suspension type would give few influence on them, but their deposit would affect on the physiological function of the clam when it reached more than 1 cm. depth on the bottom.

3) On the seaweeds, the effective dose would be presumed to be 0.4–0.8 per cent of water, and its cause was the decline of light penetration through water with tailings.

4) On the plankton distribution, although it could not be understood clearly, it would not be favorable for the products that the plankton was on the decrease in water. Therefore it would not be ignored in actual cases.

References

1) Fujiya, M, and Chikuni, S.: Bulletin of Naikai Regional Fisheries Research Laboratory, No. **11**, pp. 25–39 (1957)
2) Ellis, M.M.: *Ecology* **17**, 29 (1936)
3) Henderson, C.: *Sewage and Industrial Wastes*, Vol. **29**, No. 9 pp. 1002–1017 (1957)

ウナギの鼻上げ時の水中酸素量

板　沢　靖　男

(1960 年 5 月 28 日受理)

OXYGEN CONTENT OF WATER IN WHICH THE EEL SUFFERS FROM SURFACING OR DYSPNOEA

Yasuo ITAZAWA*

The eels in a culture pond ordinarily live near the bottom of the pond, but when the water becomes deficient in dissolved oxygen they come up to the surface, and in the extreme case they creep up to the margin of pond. The critical content of dissolved oxygen at which the eels presented symptoms of dyspnoea or surfacing is discussed. Roughly speaking, when the dissolved oxygen was less than 0.5 cc/l, 10%, surfacing was observed, when the value was above 1 cc/l, 20%, it was not observed, and in 0.5～1 cc/l, 10～20%, it was sometimes observed and sometimes was not.

Eels sometimes presented a phenomenon somewhat like creeping in the extreme case of surfacing when sea water flowed into the pond.

まえがき

養鰻池で水中の溶存酸素が欠乏するとウナギは水面に浮かび上り，甚だしくなると体位が水平から垂直に近くなり，さらに池辺に這い上るに至る。この浮上現象を鼻上げと呼び，この状態になるとウナギは餌を摂らず極端な場合には死を招くので非常に警戒されている。鼻上げの原因としては酸素欠乏の外に炭酸ガス過剰，硫化水素の発生なども考慮されるが，普通には酸素欠乏が最も重要な原因であると考えられている。

それでは酸素量がどの程度に減少したら鼻上げを起こすものであろうか。養鰻池でウナギが鼻上げしている時の水中酸素量については滝川・杉田[1]・池末[2]および稲葉[3]の観測例がある。これらは貴重な研究であるが鼻上げの観られた時の酸素量の記録であつて，鼻上げを始める直前及び鼻上げがやんだ直後の酸素量の記録に欠けているため，鼻上げの限界酸素量を論ずるにはやや不充分である。著者は養鰻池の酸素量日中変化を観測した際に鼻上げを観察し，またウナギを飼養している水槽の酸素量を人為的に漸減させ鼻上げを観察して，鼻上げ時および鼻上げ前後の酸素量を測定したので，その結果を資料として報告し同時にウナギの鼻上げの限界酸素量について若干の検討を試みたい。なお，このような問題を扱う場合の酸素定量においては WINKLER 法によつて生ずる程度の測定誤差[4]も軽視できないと考えられる。極端な例としては，伊藤[5]は *Brachionus plicatilis* の繁殖した養鰻池水の溶存酸素量を測定した際，WINKLER 法では炭酸ガス誘出法の3倍位の過大な結果を与える場合があつたことを報告している。ここに挙げる資料はすべて炭酸ガス誘出法によつたものである。また呼吸に関して水中酸素量を論ずる場合には絶対量よりも分圧あるいは飽和度によるのが妥当だと考えられるが，ここでは便宜上絶対量と飽和度で示した。

鼻上げの限界酸素量は水温，炭酸ガス分圧，硫化水素の有否その他いろいろな環境条件および摂餌状態，運動状態，低酸素圧に対する馴致履歴など魚自体に関する条件によつて影響される。鼻上げそのものも軽度の場合には必ずしも判定の容易でない不明瞭な現象である。また甚しい水変りに際して見られる重症の鼻上げには酸素欠乏以外の原因も考えられる。このようなわけで鼻上げの限界酸素量は明確には定め難い性質のものであり，僅かな資料から論ずるのは無理なことであるが，ここでは批判と示唆を仰ぐための資料の報告

* 名古屋大学農学部水産学教室 (Fish. Inst. Fac. Agr., Nagoya Univ., Anzyo, Aiti Pref., Japan).

を主眼とし，かつ比較的短時間の酸素欠乏による単純な鼻上げに限つて述べる。

本文に先立ち，御指導と御校閲を頂いた田村保教授ならびに施設の利用についての便宜と御校閲を頂いた東京大学水産実験所の中村中六助教授に心から感謝する。

自然に見られた鼻上げの場合

養鰻池およびウナギを飼養している水槽の水中溶存酸素量日中変化を観測した際に見られた鼻上げについて，鼻上げ時およびその前後の酸素量を Table 1 に示す。池および水槽の仮称ならびに観測期間中の状態は先に[6]発表したものと大体同様であるが概略を記する。C 池は愛知県渥美郡養鰻業者 T 氏所有の養鰻池で，約 1,700 坪（約 5,600 m²），水深 70 cm，魚の飼養密度坪当り約 0.5 貫（約 0.54 kg/m²），透明度（中村式[7]，以下同様）30～45 cm，主要プランクトンは *Scenedesmus* sp. および輪虫類，約1ケ月前に水変りを起して以来植物プランクトンが充分恢復していない。D 水槽および E 水槽は愛知県渥美郡東京大学水産実験所の 22 号および 31 号水槽で，コンクリート製，1 坪（3.3 m²），水深 30 cm，魚の飼養密度坪当り約 0.2 貫（約 0.23 kg/m²）（以上両水槽共通），透明度 D 水槽 16～18 cm，E 水槽 14～15 cm，主要プランクトン D 水槽 *Chroococcus dispersus*, *Scenedesmus quadricauda* および *Oscilatoria* sp.，E 水槽 *Chroococcus dispersus* および *Scenedesmus quadricauda*. 酸素量は C 池の場合は表面下 5 cm，D 水槽および E 水槽の場合は水深の中点における測定値を示した。C 池では底から 5 cm 上の層でも測定したが表層の値と極めて近かつたのでここには省略する。

Table 1. Conditions of water in which surfacing of eels was noticed and not noticed.

	Pond or Tank	Date	Time	Water Temp. (°C)	Dissolved Oxygen cc/*l*	Dissolved Oxygen %	pH
The surfacing was noticed	C	1953. 6. 20	4.30 a.m.	24.0	0.91	15	6.7
	〃	25	5.30 〃	23.9	0.61	10	6.7
	〃	27	4.00 〃	24.4	0.25	4.1	6.6
	〃	27	5.30 〃	24.1	0.79	13	6.7
	〃	27	7.00 〃	24.4	1.07	17.7	6.7
	D	7. 3	5.00 〃	26.6	0.51	9.0	7.2
	〃	3	7.00 〃	26.2	0.99	17	7.3
	E	3	4.00 〃	26.0	0.28	4.9	7.3
	〃	3	5.00 〃	26.0	0.54	9.4	7.2
	〃	3	7.00 〃	25.7	0.43	7.4	7.3
	〃	4	5.00 〃	24.0	0.18	3.0	7.0
	〃	4	8.00 〃	24.0	0.69	12	7.1
	〃	5	2.00 〃	24.9	0.28	4.8	7.2
The surfacing was not noticed	C	6. 19	5.00 〃	23.1	1.01	16.6	6.7
	〃	21	5.00 〃	23.7	0.94	16	6.7
	〃	22	5.00 〃	23.9	1.38	23.1	6.7
	〃	23	7.30 〃	22.4	1.25	20.4	6.7
	〃	26	9.00 p.m.	25.0	0.97	16	6.8
	〃	27	0.30 a.m.	24.6	0.82	14	6.6
	〃	30	6.30 〃	25.0	1.41	23.6	6.7
	D	7. 3	4.00 〃	26.8	0.99	17	7.3
	〃	4	5.00 〃	24.8	0.73	12	7.0
	〃	4	7.00 〃	24.4	1.13	19.1	7.1
	〃	4	8.00 〃	24.3	1.93	32.5	7.2
	E	3	8.30 〃	25.7	1.38	23.8	7.4
	〃	3	10.30 〃	25.7	1.38	23.8	—
	〃	4	10.00 〃	24.6	1.63	27.6	7.2
	〃	5	5.00 〃	24.4	0.51	8.6	7.0
	〃	5	7.00 〃	24.3	1.95	32.9	7.1
	〃	7	4.00 〃	23.7	1.56	26.0	7.2

Only the data on the case in which the dissolved oxygen was less than 2 cc/*l* are picked up in this table.

人為的に起こさせた鼻上げの場合

水槽の全面を木製の蓋で覆つて日光を遮り酸素量を漸減させてウナギが鼻上げするまでに至らしめ，その間の酸素量の減少傾向とウナギの状態を観察した結果を Fig. 1 に示す。E 水槽は前記の E 水槽と同じで，観測期間は 1953 年 7 月 9〜10 日，水温 24〜28°C，魚の飼養密度坪当り約 0.2 貫（約 0.23 kg/m²），透明度 13 cm，主要プランクトン *Chroococcus dispersus* および *Scenedesmus quadricauda* F 水槽および G 水槽は愛知県安城市名古屋大学水産学教室のコンクリート水槽でともに 0.5 坪（1.65 m²）。F 水槽は観測期間 1954 年 11 月 24〜26 日，水温 13〜15°C，魚の飼養密度坪当り約 1.0 貫（約 1.14 kg/m²），透明度 12 cm，主要プランクトン *Cosmarium* sp.，*Scenedesmus quadricauda* および *Oocystis sp.* G 水槽は観測期間 1953 年 12 月 18〜22 日，水温 10〜13°C，魚の飼養密度坪当り約 1.2 貫（約 1.36 kg/m²），透明度 10 cm，主要プランクトン *Scenedesmus* sp.

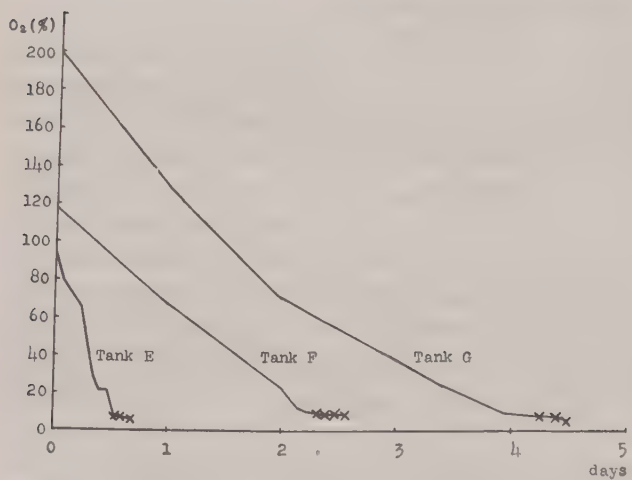


Fig. 1. Surfacing of eels observed in tanks which were screened from the sunlight.
Ordinate: Dissolved oxygen (%), Abscissa: Elapsed time (days) during the screening. ×: means that surfacing of eels was noticed.
Experiment in Tank E: 1953, 7. 9〜10, water temperature 24〜28°C, Experiment in Tank F: 1954, 11. 24〜26, water temperature 13〜15°C, Experiment in Tank G: 1953, 12. 18〜22, water temperature 10〜13°C.

鼻上げの限界酸素量についての考察

水温の高低，pH 値の大小に拘わらず，Table 1 と Fig. 1 を合わせてウナギの鼻上げが見られた時と，酸素量が 2 cc/*l* 以下で鼻上げが認められなかつた時との溶存酸素量をとり纏めて，絶対量ならびに飽和度で示すと Table 2 のようになる。

Table 2. Dissolved oxygen of water in which surfacing of eels was noticed or not noticed.

The surfacing was noticed	cc/*l*	0.18, 0.25, 0.28, 0.28, 0.36, 0.43, 0.43, 0.44, 0.47, 0.51, 0.51, 0.54, 0.54, 0.61, 0.62, 0.66, 0.69, 0.69, 0.72, 0.79, 0.91, 0.99, 1.07
	%	3.0, 4.1, 4.8, 4.9, 5.9, 6.0, 6.8, 7.2, 7.3, 7.4, 7.4, 7.8, 8.3, 9.0, 9.4, 9.5, 10, 10, 12, 13, 15, 17, 17.7
The surfacing was not noticed	cc/*l*	0.51, 0.73, 0.74, 0.77, 0.82, 0.91, 0.93, 0.94, 0.97, 0.99, 1.01, 1.13, 1.25, 1.27, 1.28, 1.38, 1.38, 1.38, 1.41, 1.56, 1.63, 1.67, 1.74, 1.83, 1.93, 1.95
	%	8.6, 9.6, 10, 12, 13, 14, 16, 16, 16.6, 17, 19.1, 20.4, 21.1, 21.7, 23.1, 23.4, 23.6, 23.6, 23.8, 23.8, 23.8, 26.0, 27.6, 28.4, 32.5, 32.9

Only the data on the case in which the dissolved oxygen was less than 2 cc/*l* are picked up in this table.

これを見ると鼻上げの見られた時の値と見られなかつた時の値とは若干重複しているが，概括的にいつて絶対量では 0.5 cc/l 以下なら鼻上げをする，1 cc/l 以上ならしない，また飽和度では 10% 以下なら鼻上げをする，20% 以上ならしない，そして 0.5～1 cc/l, 10～20% では鼻上げする場合もあり，しない場合もあるということが出来るかと思う。著者は先に[8] 限界酸素量として 0.7 cc/l という値を報告したが，その後観測資料も増しまた元来1線を以て画することの無理な問題でもあるので，上のように訂正したい。なおこれは酸素欠乏のみによる単純な鼻上げの場合でかつ酸素欠乏時間も短い。水変り状態の池で有毒物質が生成したり，慢性的に酸素欠乏が続いているような場合は事情が異なるであろう。0.5～1 cc/l, 10～20% の範囲では鼻上げの認められた時と認められなかつた時があるのは，観察上の誤りもあるであろうが，水温，炭酸ガス分圧などの環境条件および個体差，摂餌量，運動状態など魚自体に関する条件の相違によつてまちまちな結果が現われたのであろう。そのほか酸素欠乏状態の継続時間とも関係があるように思われる。例えばD水槽の7月3日早朝の例のごとく酸素量が漸減して 0.99 cc/l (17%) になつた時は鼻上げをしなかつたが，さらに減少して鼻上げを始め，その後日が昇つて酸素量が増加し再び 0.99 cc/l (17%) になつた時にもなおウナギは鼻上げをしていた。これと同様な現象はほかにも観察された。

水変りを起こしていない場合のウナギ鼻上げ時の酸素量として滝川・杉田[1] は表層 0.73 cc/l (13.0%)，底層 0.90 cc/l (16.0%) という値を挙げており著者の観測結果とほぼ一致しているが，池末[2] は水色良好な池で 1.28 cc/l (22.4%) 乃至 3.08 cc/l (52.7%) というかなり大きな値を記録している。水変りを起している場合は一般にかなり高い酸素量の時にも鼻上げが観察され，稲葉[3] は最高 3.66 cc/l という値を示している。これらの高い値が記録されたのは，有毒物質などの酸素欠乏以外の原因があるのではないかと考えられ，また WINKLER 法に伴なう測定誤差の関係している場合もあるかも知れないと思われる。

遮光実験の結果を見ると夏期の例は魚の飼養量が少ないにも拘わらず急激に酸素量が減少し，冬季の例は魚の飼養密度も高く植物プランクトンもより濃密であつたにも拘わらず酸素量の減少は緩慢であつた。これは魚ならびに植物プランクトンの呼吸および有機物の分解などによる酸素消費が水温によつて大きく影響されるためで当然のことである。しかし水温の高低に拘わらずウナギが鼻上げを始める時の酸素量は大体一定していることは注目される。もちろん血液の酸素解離曲線におよぼす温度の影響を考えれば環境水の酸素分圧が同じでも血液の酸素含量は高水温の時は低水温の場合より低くなることも想像され，ウナギの血液について *in vitro* においては KAWAMOTO[9] がこのことを実証した。したがつて鼻上げの限界酸素量も水温によつて異なるものと考えられるが，上記の観察結果ではその相違はあまり大きくないようである。しかし鼻上げの起こり易さ，鼻上げが起きた時の被害の程度などは別の問題で当然水温によつて異なるであろう。

なお UBRIG[10] は Elritze その他において，表層と底層の酸素量に相違がなくても，全体として酸素量が豊富であれば正の趨地性を示して底層に沈み，全体として酸素が欠乏すれば負の趨地性に転じて表層に浮上することを，容器を上下反覆顛倒することによつて実験的に示した。

鼻上げに類似した現象

海岸に隣接した養鰻池では酸素量が甚だしく欠乏していない場合でも時に鼻上げに類似した現象の見られることがあるので，ここに少しばかり附記する。

前記のC池は満潮時前後に排水口から海水が入り込む。その際排水口及びその附近の岸に這い上ろうとするウナギ，すでに這い上つたウナギ，稀には上つたり降つたりしているウナギの見られることがあつた。このような現象が見られた時の溶存酸素量の観測例の1つを Fig. 2 に示す。

C池は約 1,700 坪 (約 5,600 m²) の長方形の池で餌場は長辺の中ほどにあり排水口は一端にある*。排水口附近で上記の現象が見られたのは 26 日の 18 時と 27 日の 4～7 時で丁度満潮時 (26 日 18 時 30 分および 27 日 5 時 40 分) の前後に当り，酸素量の少ない時とは必ずしも一致しない。またウナギの状態も

* Table 1 に示した観測値は餌場附近の値である。

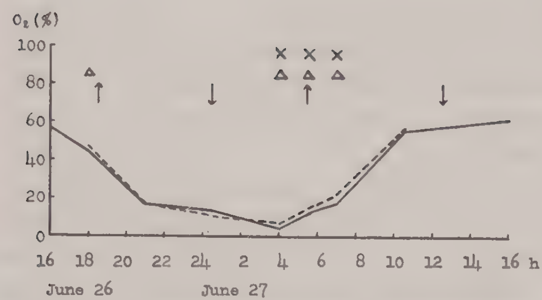


Fig. 2. A phenomenon somewhat like the creeping in the extreme case of surfacing in Pond C.

—— Dissolved oxygen of the surface water at the feeding place.

···· Dissolved oxygen of the surface water at the outlet. Sea water flows into the pond from the outlet at high tide.

↑ High tide, ↓ Low tide.

× means that true surfacing was noticed in various places of the pond.

△ means that a phenomenon somewhat like the creeping in the extreme case of surfacing was noticed at the outlet.

真の鼻上げによつて岸に上つた場合に比べて元気が良い。なお 27 日の 4～7 時は酸素量が極めて少なく池の各所でウナギおよびボラが浮上して水平に泳ぐ軽度の鼻上げを示したが，排水口附近において見られたウナギが岸に這い上ろうとする現象の一部はこれと時刻的に一致したけれども明らかに異なる性質のものと見られた。したがつてこの現象は一見重症の鼻上げに類似しているが，“しおのさし込み” に対する反応と考えられる。

ただし酸素不足と全く無関係な現象ではない。鼻上げをする程でなくても酸素が豊富でなく，餌付きも良好でない場合によく見られる。養鰻業者はそのような時に餌を摂つたウナギが排水口附近に上るという。上の例では酸素量は26日18時に餌場 2.63 cc/l (44.1%)，排水口 3.43 cc/l (57.6%)，27 日 5 時 30 分に餌場 0.79 cc/l (12.9%)，排水口 0.91 cc/l (15.0%) というように概して排水口附近の方が高く，入り込む海水は更に酸素が多いのであろうから，しおのさし込みに対する反応は酸素の多い水に対する反応とも考えられる。もつとも酸素量が昼間 150% に達し早朝にも 24% 程度で鼻上げの起こらなかつた日にも満潮時前後にこの現象の見られたことがあつた。その時の酸素量は餌場 6.57 cc/l (113%)，排水口 5.14 cc/l (88.5%) で排水口の方が低かつたがどちらもかなり高い値である。

いずれにしてもこの現象はいわゆる鼻上げとは異なるもので，誤つてこれを鼻上げと判断すると異常に高い酸素量の時に鼻上げの記録されることが起こり得る。

なお Fig. 2 に示した例において，排水口附近における塩素量は 26 日 18 時に最大となり 0.79‰，餌場附近との塩素量の差が最大になつたのも同時刻でそれは 0.48‰ 程度であつたから入り込む海水の量はあまり多くはないと考えられる。

補遺： (1) 野口博氏は酸素量の日次変化の観測記録では鼻上げと酸素量観測との間に時間的なずれのある場合が多いから鼻上げの限界酸素量を論ずるためには日中変化を見なければならないと，著者と同様の見解を個人的に語られた。野口・角替（静岡県水試浜名湖分場時報，昭 25，第 3，4，8，11，12 報，1950）の日中変化観測記録では，鼻上げ時の酸素量として 0.8 cc/l (15%) を，鼻上げの見られなかつた時の最小酸素量としては 0.75 cc/l (12.7%) を記録しており，著者の観察結果もほぼこれに一致する。(2) 鼻上げの限界酸素量を本文中に示したが，警戒すべき線はもちろんもつと高いところ，たとえば 2 cc/l，35% ぐらいにおくべきであろう。

ま　と　め

ウナギについて比較的短時間の酸素欠乏による単純な鼻上げの限界酸素量を検討した。養鰻池や養鰻水槽においては概括的にいつて絶対量で 0.5 cc/l，飽和度で 10% 以下になると鼻上げをし，1 cc/l，20% 以上ならば鼻上げをせず，そして 0.5～1 cc/l，10～20% では鼻上げをする場合としない場合とがあつた。なお海水の入り込む時に鼻上げ類似の現象が見られる場合があつた。

文　　献

1) 滝川　悟・杉田隆治： 養魚池水質日中変化の一観察，養殖会誌，**4** (7, 8)，132～140 (1934).

2) 池末　弥： 養鰻池における水温酸素量および pH の観測結果，養殖会誌，**5** (1, 2)，1～13 (1935).

3) 稲葉　俊： 養鰻池の“水変り”に関する予察的研究，静岡水試浜名湖分場，魚介類斃死原因調査報告，第II報，39 p，(1937).

4) 板沢靖男： 養魚池水の溶存酸素定量法に関する若干の検討，本誌，**23** (1)，27～32 (1957).

5) 伊藤　隆： 養鰻池の水変りに関する研究，II．*Brachionus plicatilis* による水変りにおける pH・O_2 の変化，*Rep. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie*, **2** (1)，168～177 (1955).

6) 板沢靖男： 養魚池水溶存酸素量の日中変化と植物プランクトン密度，魚の飼養密度および日射量との関係，本誌，**22** (11)，685～693 (1957).

7) 中村中六： 養魚池透明度の一表現法，本誌，**19** (11)，1096～1099 (1954).

8) 板沢靖男： 養鰻池溶存酸素量の日変化とウナギの鼻上げについて，昭和 29 年度水産増殖分科会で講演発表，(1954).

9) KAWAMOTO, N.: Physiological studies on the eel. II. The influence of temperature and of the relative volumes of the red corpuscles and plasma upon the hemoglobin dissociation curve. *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.*, 4th *Ser.*, **4** (4), 643～659 (1929).

10) UBRIG, H.: Der Einfluss von Sauerstoff und Kohlendioxyd auf die taktischen Bewegungen einiger Wassertiere. *Ztschr. vergl. Physiol.*, **34** (5), 479～507 (1952).

ON THE MACROSCOPIC AND PHYSIOLOGICAL CHANGES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF *Salangichthys microdon* BLEEKER UNDER THE INFLUENCES OF PHYSICAL AGENTS, DISINFECTANTS AND NARCOTICS—I* INFLUENCES OF PHYSICAL AGENTS

Shigeru SUZUKI** and Tadatoshi MASUYAMA**

(*Received May 30, 1960*)

As to the mechanisms of disinfection against becteria, there has been presented many theories based on the enzyme chemistry. However, most of them are far from the complete understanding of the mechanisms. The function of disinfectants consists of three stages, the stimulative stage similar to the effect of hormones, the inhibitory and finally the bactericidal stage. Therefore, these phenomena can not be explained completely by any simple enzymic action.

BANCROFT and RICHTER (1931)[1] postulated the coagulation theory, claiming that the action of disinfectants resembled that of narcotics. In this paper, comparative studies on the action of narcotics and disinfectants on the central nervous system will be presented macroscopically and physiologically.

Materials and Methods

In these experiments, the effects of various agents on the *Salangichthys microdon* BLEEKER, a translucent vertebrate, were observed by the changing processes of its central nervous system which could be seen through the transparent cranial bone.

The *Salangichthys microdon* BLEEKER used in this experiment was obtained from the Edo River and Tama River both in Tokyo. Because of its rapid death after being fished, most experiments were carried out on the spots fishing, and a few in our laboratory.

The observations were mostly macroscopic, but if necessary histological techniques using the close-up photography were used. The changing process was recorded by means of 16 mm. films.

We were greatly indebted to cordial assistance offered by the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory in fishing, near Urayasu at the mouth of the Edo River.

* Read before the meeting of National Institute of Health and Institute of Infectious Diseases May 29, 1952.

** National Institute of Health, Tokyo. (鈴木茂：国立予防衛生研究所)

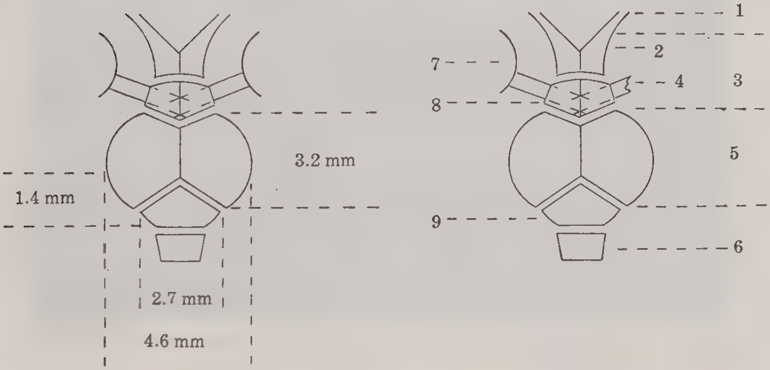
*** Hoshi School of Pharmacy. (増山忠俊：星薬科大学)

Macroscopic Observation

The average length of the body: 105 mm±10mm.

The average weight male: 2.8 g±0.5 g.

female: 2.9 g±0.5 g.



1 . . . . . olfactory nerve
2 . . . . . olfactory lobe
3 . . . . . terminal brain
4 . . . . . optic nerve
5 . . . . . optic lobe
6 . . . . . medulla oblongata
7 . . . . . eye-ball
8 . . . . . cerebrum
9 . . . . . cerebellum

Fig. 1. The brain of *Salangichthys microdon* BLEEKER (shown by a diagram)



Fig. 2. The brain of *Salangichthy microdon* BLEEKER (opalescence stage)

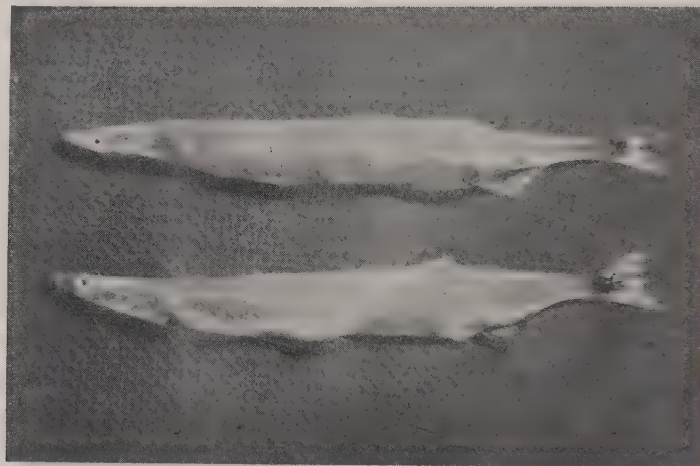


Fig. 3. *Salangichthys microdon* BLEEKER. Upper picture is female; lower one is male

Immediately after catch, the fish was lightly pressed between pieces of sterile gauze in order to absorb water on it, and laid on a sheet of black glass for observation. The living body was translucent, particulary so at the head, so that the brain could easily be located (Fig. 1, 2, 3,), the heart and vertebral column could also be recognized from outside, but they were almost transparent. A line of black specks, probably the *Linea lateralis*, ran on the abdomen from the pectral fin to the tail fin. The male was found to have large scales between the anal and the tail fin, and the female to have many eggs inside the abdomen. Eggs were found colourless but were less transparent than the body itself.

Experimental Results

1. Macroscopical Changes at Death

The *Salangichthys microdon* laid on a sheet of black glass showed the following changes (from a to p in Fig. 4). First of all, a very slight degree of opalescence appeared at the boundary between the terminal brain and the optic lobes, gradually becoming stronger (a and b in Fig. 4). Then milky opalescence developed at the periphery of the cerebrum (c and d in Fig. 4). Then, the optic lobes became opaque and the cerebrum increased its opacity, extending to the olfactory lobes (from e to g in Fig. 4). A white sharply margined spot made its sudden appearance at the distal end of the optic nerves behind the eye-ball, enlarging its size centripetally toward the terminal brain (from h to j in Fig. 4). Concurrently opalescence in the olfactory lobes extended centrifugally toward the nose, giving the olfactory nerves milky opalescence. Next, opaque change, spreading centrifugally from the cerebellum, reached to the medulla oblongata (from k to p in Fig. 4). About twenty minutes

were necessary for the changes described above. The blood vessels could not be recognized from the outside of body owing to their transparency. In short, all the nervous system in the head became opaque centrifugally with the only exception of the optic nerve, At this time, the alimentary canal became opaque, so that it is was more clearly recognized. Then opalescence appeared in the heart expanding to all

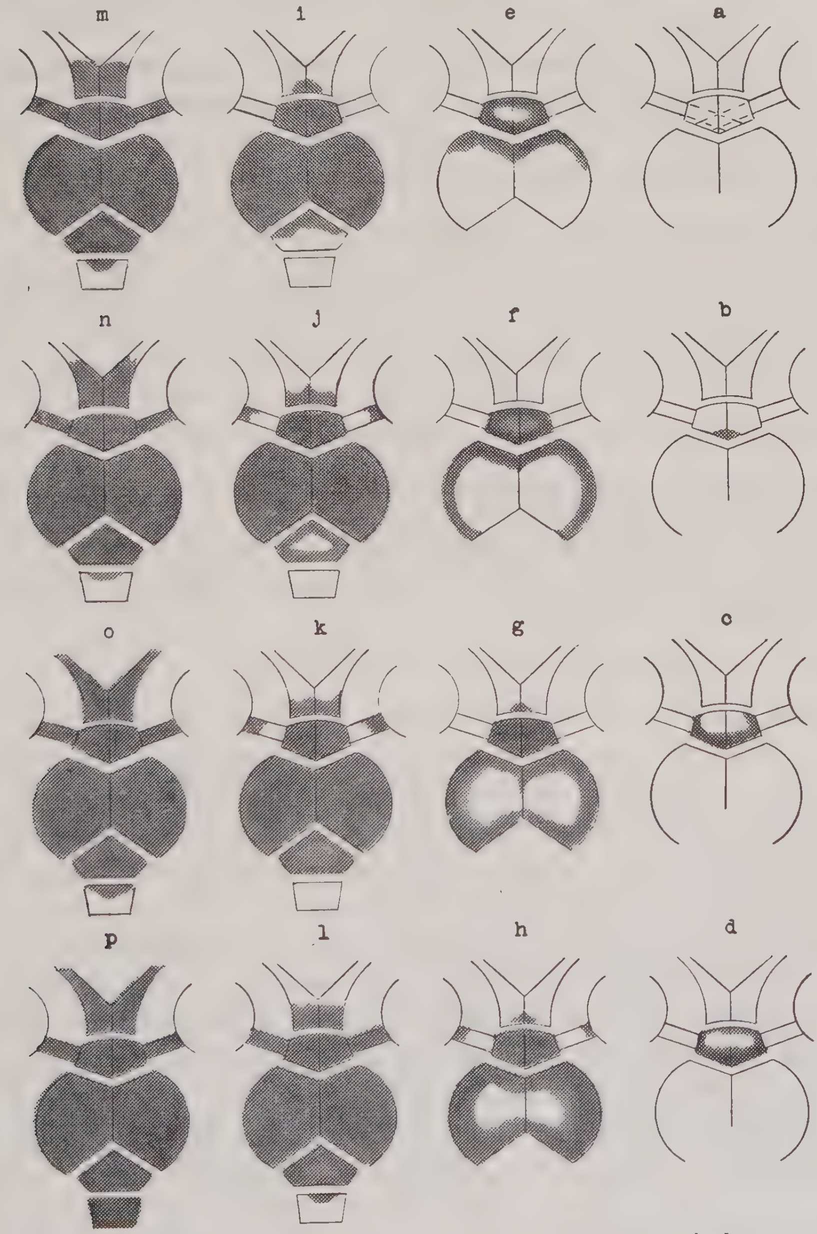


Fig. 4. The brain of *Salangichthys microdon* BLEEKER proceeds from a to p (shown by a diagram)

other internal organs. When the opacity took place in the medulla oblongata, a similar change happened in the spinal cord, gradually extending towards the tail. It took three to four hours for the change to reach the terminal part of the spinal cord. During this period of time, the muscular system of fish gradually became opaque, and after about ten hours the whole body became completely opaque, making candle-like appearance. The bone system of the head, however, did not became white enough and kept its transparency, which facilitated the observation of the central nervous system from outside. These changes could be observed even twenty-four hours after the death of the fish. However, if the contents of the alimentary canal were pressed out of the body, the opaque change in the canal was highly retarded, requiring about the same period of time as that for the motor muscles.

2. Death Caused by suffocation in Faraffin Oil or by Removal of the Heart

The fish was soaked in paraffin oil for five to eight minutes; some fishes which did not die with this treatment, were srcrificed by taking out their heart. As described in the proceeding section, the boundary between the terminal and the optic lobes became white, extending towards the cerebrum. The development and the order of the opalescence change were quite similar to those observed in the natural death.

3. Changes Observed after on Amputation of the Head

Immediately after fishing, the head was cut off a beneath the medulla oblongata and a stopwatch was started at that time. Very soon after the amputation, both ends of the wound turned sharp white.

(1) Observation on the head

The white change at the site of amputation did not extend to the brain; fifteen seconds after the amputation, the boundary between the cerebrum and optic lobes became opaque, increasing its intensity with time. After thirty seconds, the opaque change began to occur in the optic lobes gradually increasing its intensity, too. After one minutes, optical nerves became markedly white at the part just behind the eye-balls. This change extended centripetally towards the brain. After two minutes, the change in the periphery of the optic lobes reached its maximum, giving a sharp contour. After two minutes and fifty seconds, the contour of the cerebellum came into sight and the change in the olfactory lobes was in progress. Five to eight minutes after the amputation, the opaque change developed in the terminal brain (olfactory lobes and cerebrum), optic lobes and cerebellum. The olfactory nerves required six minutes for changing to white. Thus, eight minutes were required for the completion of the change in the central nervous system.

(2) Observations of the body

The changes at the cut wound extended along the spinal cord to its terminal end.

After sixty minutes, the entire spinal cord completed its change. The change in the alimentary canal began four minutes after the amputation and completed after fifteen minutes,

4. Change at Death by Striking on the Head

Immediately after being fished, the fish was lightly struck on the head with the forefinger and a stop-watch was started. At the moment of the stroke, light opalescence appeared in the terminal brain. Optic lobes, cerebellum, and optic nerves, but soon disappeared. After fifteen seconds the white change appeared at the posterior part of the cerebrum extending centrifugally. After thirty seconds the distal end of the optic nerves became opaque. These changes also appeared in the optic lobes and cerebellum ninety seconds and three minutes and a half after the stroke, respectively. In about four minutes, the cerebrum turned completely white. In the case of the optic nerve, the change proceeded centripetally from the distal end. After about five minutes, the olfactory nerves turned opaque centrifugally from the olfactory lobes. Six minutes were required for the completion of the change in the central nervous system.

When a more slight stroke was given than in the above experiment, slight milky opalescence appeared in the cerebrum and soon disappeared. The fish showed momentary cramp and lose its motility. However, when the white change of the brain disappeared, the fish restored its original state and began to swim as before. On the other hand, stronger stroke with a iron-stick (1 cm. in diameter, 15 cm. in length, 103 g. in weight) caused the similar white change which persisted and spread progressively to the whole nervous system and lead the fish to death, giving the similar appearance as described in the death.

5. Ultraviolet Irradiation Upon the Head of the Fish

An ultraviolet lamp (15 watt, 2537 Å) made by the Sankyo Electric Company was employed. The head of the fish was irradiated for twenty minutes with ultraviolet ray coming through a hole (5 mm. in diameter) on a sheet of black paper, and the distance between the lamp and the fish was adjusted to 20 cm.. Ten male and six female irradiated showed opalescent change in the cerebrum. In each of the fishes irradiated, a white point appeared at the distal end of the optic nerves after about eighty seconds. Opalescence appeared at the circumference of the optic lobes, in the cerebellum and terminal brain after about one hundred fifty seconds, about two hundred and thirty seconds, and eight minutes and fifty seconds, respectively. After about eleven minutes, the change was completed in the whole part of the optic nerves and in the entire central nervous system. The heart continued its beating during the period of fifteen minutes, and no opalescence was observed in other parts of the body.

Discussion

The opalescence changes either in the central nervous system or in the digestive organs of *Salangichthys microdon* were found to be one of the conspicuous differences observed in living and dead fish. It is the transformation of the tissues from the transparent into opaque state and is caused by the total reflection of visible light. It may be regarded as a change in the arrangement of the colloidal particles which build up the nervous cells, a change from coacervation to coagulation. According to Bancroft, coagulation consists of the reversible and irreversible states which seemed to be coincided with the change, the changes of the nervous system, observed in the struck fish in the present study. From the view points of the colloidal chemistry, coagulation means that colloidal particles come close together and settle down from the homogenous arrangement under the influence of chemical or physical agents. The phenomenon observed in this study may thus be due to coagulation. Therefore, we should understand that there is no reversible coagulation but coacervation as mentioned by Bancroft.

In such a case as *commotio cerebri*, whitening takes place in the brain cells of the fish arranged in a properly dispersed fashion, owing to the change in their transparency to the visible light, and it disappears with awakening of the fish. The mechanism involved in this phenomenon may be regarded as the coacervation of colloid micelles within the protoplasm. An advancing process from coacervation to coagulation is assumed in explaining the phenomenon observed when the fish proceeds to death, instead of awakening. It is well known that there is extreme difference in the brain function in awakening and in *commotio cerebri*. The brain function in sleeping and coma will probably resemble to that in *comotio cerebri*. The border between reversibility and irreversibility in the above three cases will be the reaction critique which probably lies within the range of coacervation. When the reaction critique occurs in the protoplasm and the micelles distances are shortened, coacervation of the cell will proceed progressively to coagulation, resulting in the true death. After coagulation, follows the autolysis of the protoplasm.

Throughout the experiments reported herein, the colloidal state of the cells of the central nervous system of the fish was found to be much more labile than that of other systems in the body. At any kind of death, the change appears first in the central nervous system. The optic nerve, however, shows characteristic attitude that coagulation appears at the distal end of the nerve just behind the eye-ball at a certain time after death, and proceeds centripetally towards the brain. Interestingly enough, it is embryologically said that brain and optic nerve develop in parallel and the latter is not splitted from the former.

Summary

1) Whitening or opalescence changes of the central nervous system were observed in the death of *Salangichthys microdon* BLEEKER, whatever kind of the physical cause may be used. This change appeared first of all at the boundary of cerebrum and optic lobes, and the whitening of the latter appeared and proceeds completely independently from the former.

2) When the spinal cord was cut off, the whitening appeared instantly at the site of the cut of the nerve and the boundary of cerebrum and optic lobes became white stimutaneously, but the appearance of the whitening at the site of cut of the muscles is delayed.

3) The whitening of the digestive tract followed that in brain and the spinal cord.

The authors are grateful to Prof. Katsuo AKAGI of Nihon Medical College for his technical advices.

References

1) D. W. BANCROFT and G. H. RICHTER: J. Physiol. Chem., **35**, 215 (1931)
2) C. L. EVANS: Principle of Human Physiology, 77, J. A. Churchill Ltd., London (1948)

STUDIES ON THE APPLICATION OF DEHYDROGENATING REACTION TO EVALUATE THE EFFECTS OF INDUSTRIAL WASTES TO OYSTER

Masaru FUJIYA*

(*Received June 25, 1960*)

Introduction

In recent years, the remarkable expansion of the studies on the dehydrogenating reaction has been recognized through many papers in the fields of Biochemistry and Pathology, and especially succinic dehydrogenating reaction has been utilized in many research fields, since SELIGMAN's paper was published[1]. It is said that dehydrogenase exsists in mitochondria of cells and has the most important function for the respiration of cells. The pathology in medical science has applied the reaction to evaluate the harmful effects of many kinds of desease and the contribution is very remarkable at the present time. The research programs regarding it on the fisheries biological science is not in advance of other fields', especially that in medical science. It was considered that it must be also useful and valuable for the advancement of physiological experiments concerned with water pollution to apply the reaction for evaluating the effects of toxic materials upon aquatic organisms. Thereupon, this experiment was intended to study the effects of industrial wastes and chemicals upon oysters. The troubles concerned with water pollution to oyster have been occurred frequently at the coastal area in Japan. Although many papers about them have been reported up to the present, there is few on the effects of industrial wastes upon the physiological function of oysters. Then, it will be significant for the development of this research field to apply the reaction as a kind of physiological functions evaluating the effects of industrial wastes.

Method

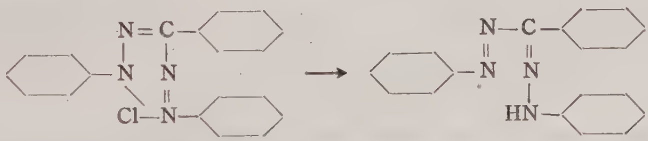
Before explaining on the method of this experiment, general principle of dehydrogenating detection should be stated here. Although Thumburg-methylen-blue method was utilized to detect the dehydrogenating reaction in the past, some kinds of tetrazole compounds have been used at the present time, since SELIGMAN. The tetrazole compounds have satisfactory oxidation-reduction-potentials (approximately -0.08 v) for detecting the activity of the dehydrogenase. They have yellow color as one of the original characters and water solution of them are usually used in experiments. In general, the reaction should be carried out in the medium added succinic acid as a substrate under the certain conditions of pH and temperature. Under the conditions,

* Inland Sea Regional Fisheries Research Laboratory, Ujina, Hiroshima, Japan. (内海区水産研究所)

the succinic acid will lose two hydrogen atoms to be converted to fumaric acid if living organisms would be added in the medium and the succinic dehydrogenase would be supplied into it through them. The hydrogen atoms reduce the tetrazoles to make the formazan, which have different colors according to their chemical characters. The formazan made by this reaction are always stable and insoluble to water. The tetrazoles which are popular at the present time are following three kinds;

1. 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (T.T.C.)
2. ditetrazolium chloride
3. dimethoxy neotetrazolium chloride

In these compounds, 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride is the most popular and was used in this experiment. As a principle of the formazan formation, following formular is concerned;



In this reaction, T.T.C. is converted to triphenylformazan which has a red color, and the activity of dehydrogenating reaction can be evaluated through this process colorimetrically.

The reagent used in this formation were made up according to SELIGMAN's method as follows;

i) 2% T.T.C. solution
ii) 0.2 M succinic acid solution (succinic acid 32.43 g/L)
iii) 0.1 M phosphoric acid buffer solution
(NaH$_2$PO$_4$ 12H$_2$O: 1.56 g., Na$_2$HPO$_4$12H$_2$O: 28.64 g., Distilled water: 900 ml.)

These reagents were mixed with distilled water to make an incubation medium according to the following prescription;

2% T.T.C. solution..............................1 part
0.2 M succinic acid solution ....1 part
0.1 M phosphoric acid buffer solution.............1 part
Distilled water.......................................1 part

Several kinds of chemicals and industrial wastes—Acid, as from of H$_2$SO$_4$, Alkaline, as form of NaOH, Rayon industry waste, Pulp mill waste and fresh water—were used to estimate whether the reaction is useful to evaluate the effects of industrial wastes or not, in this experiment.

The method utilized in this experiment was employed as follows;

1) From the oysters exposed for 24 hrs. in waters mixed with the materials in several concentrations, their adductor muscles, mantles and gills were removed and the remaining parts were used as the samples.
2) The samples were homogenized by electric homogenizer immediately after removal.

3) After then, they were transferred into the incubation medium prepared in the test tubes. The optimal ratio between the sample and the medium was 1:5, as the result of preliminary test.
4) Incubation was carried out on the samples for 2 hrs. at 37°C.
5) After then, the samples were gathered up by centrifugation and the formazen of each sample was extracted with Toluen after the reaction was stopped by the adding of acetic acid.
6) Then, the formazan dissolved in the solvent was measured colorimetrically.

In order to evaluate the effects of the materials to oyster, the method mentioned above was arranged by the usual way. Although almost all parts of the method were used without arrangement, the parts arranged for this experiment should be explained here.

1. On the ratio between contents homogenized sample added in the incubation medium and volume of the medium.

Although the reactions were recognized regardless of the ratio between the sample contents and the volume of the medium, the most satisfactory result was observed when 1 g. of the sample was put into 5 ml. of the medium. Therefore this ratio was determined to be used in the experiment though it is said that the optimal ratio about the land animals is 2:1.[2]

2. On the incubation time.

The relationship between the incubation time and the optical density of formazan extracted from samples is shown in Fig. 1. It is doubtless that the reaction is completed in 1–1.5 hrs. after the incubation beginning, and the sufficient incubation time was determined to be two hrs.

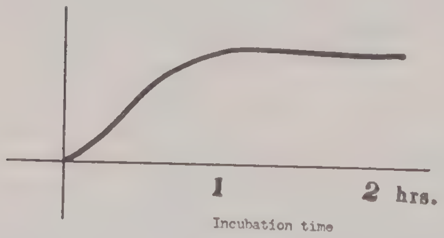


Fig. 1. Relation between the incubation time and the quantity of formazan.

3. On the solvent for formazan extraction.

It is said that the formazan made from T.T.C. dissolved in almost all organic solvents. Etanol, Butanol, Aceton, Xylen and their mixtures of two kinds of these have been reported as the solvent for the formazan, but it was considered that it might be more proper way for the extraction of the formazan from the samples of aquatic organisms to use the water immiscible solvents. Because, the sample must be separated perfectly from the incubation medium to ensure accuracy when the water miscible solvent are used, but it is not necessary to consider such trouble

if the water immiscible one is used to the extraction of the formazan. Therefore, toluen was elected as such having a satisfactory result.

4. On the wave length of colorimetrical measurement.

The formazan made through the method have different colors according to their original tetrazole compounds. T.T.C. reagent used in the experiment has a red color as the result of the reaction. The proper wave length of the colorimetrical measurement was determined according to a result of preliminary test to be 510 mμ.

Although there might be some other items to be considered on the case of this method, besides such mentioned above, it was recognized that the results taken through the method in this experiment were suitable to detect the hydrogenating activity of aquatic organisms.

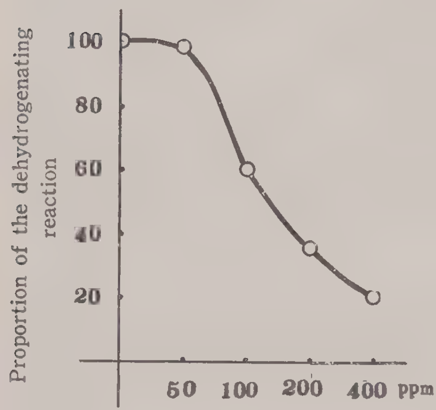
Results and consideration.

On the distribution of the dehydrogenase in oyster.

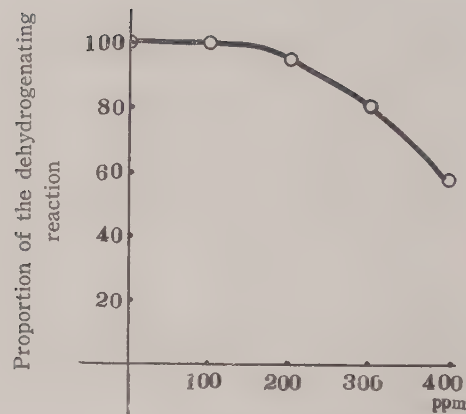
In order to observe the distribution of the dehydrogenase in oyster, the samples cut into slices were studied according to the usual way. It was able to be observed that the dehydrogenase distributes to the almost all parts of the body, especially to the gills and digestive organs. It is shown through the result that they have much ability concerned with respiration as the physiological function. Therefore, it may be necessary that each organ is studied by the reaction individually to evaluate the effects of toxic materials. In this experiment, however, the body from which removed the adductor muscle and the gills was used for the evaluation. Because, it is considered that there are reasonable different effects between the remaining body and other parts removed. The effects of toxic materials upon the gills should be estimated as a kind of acute toxicity of the materials, even if the concentration of the materials would be low, but, on the other hand, the effects upon the internal organs in the body should be considered as a chronic toxicity. Therefore, here are some radical differences for the evaluation of the effects. Then, it may be suitable to use the gills if the acute toxicity will be estimated, but the body should be carried out to evaluate the chronic one. There are several ecological methods such as TLm evaluation for the acute toxicity, so that the method to estimate the physiological effects such as the dehydrogenating reaction should be applied to evaluate the chronic effects upon the organisms. Under such consideration, the body from which removed the adductor muscle and gills was used to the experiment as the material.

On the evaluation of the effects.

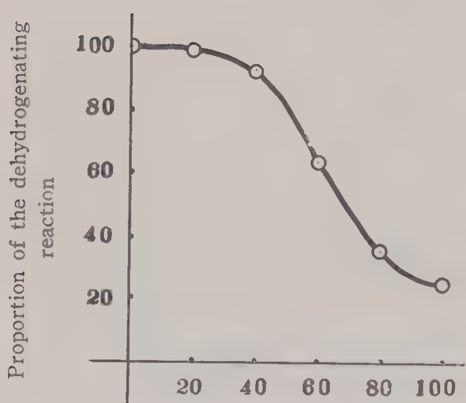
On the all materials used in this experiment, the full scale tests were tried after preliminary observations. The relationships between the proportion of the dehydrogenating reaction and the concentration of each material were recognized as shown in



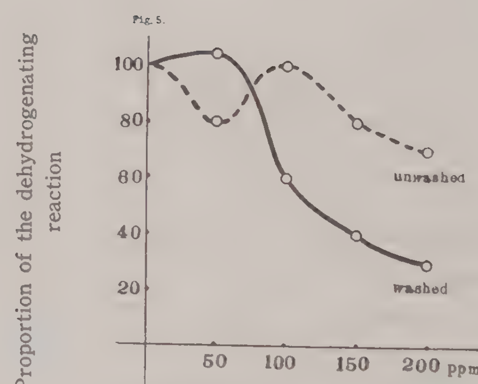
Concentration of H_2SO_4
Fig. 2.



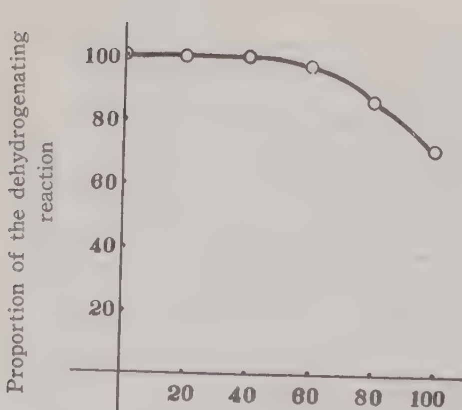
Concentration of NaOH
Fig. 3.



Concentration of Rayon industry waste (%)
Fig. 4.



Concentration of Pulp Mill waste (ppm C.O.D. value)
Fig. 5.



Percentage of fresh water
Fig. 6.

Fig. 2-6. Showing the relation between the proportion of the dehydrogenating reaction of oyster and the concentration of the materials in water in which the oysters exposed.

Figs. 2–6. In these figures, the proportion of formazan evaluated in each experiment was decreased with concentration of each material. Therefore, it is doubtless that the dehydrogenating reaction of oysters must be affected by the materials. At the same time, the succinic dehydrogenase is one of the most important substances for the cell respiration of organisms and decreasing of it must be harmful effect for them to decrease the respiratory action. Consequently, it may not only affect the physiological function of organisms, but also may be connected with poor development of them that the materials give the harmful effect to oysters. Therefore, it is sure that the method is the proper way to estimate a kind of physiological effects of industrial wastes to oyster. Nevertheless, some troubles were recognized on oyster exposed in the water mixed with pulp mill waste. The oysters without washing after exposure to the pulp mill waste showed the results of the fluctuated values on the formazan measurement. Although there may be some factors to be considered on the trouble, it was the most serious that the waste which adhered on the samples had so much reducing activity, especially under incubation. As an evidence, oysters washed to put off the waste after exposure have no such trouble. Besides, it was observed that some kinds of metallic compounds interrupted the reaction, although the brief experiments were tried only to observe the interrupting action in this experiment. And also, it is said that some kinds of materials for instance Cystein, Ascorbic acid, Ferric compounds and Hydrogen sulfide and so on also interrupt this reaction. Then, it is necessary for the correct evaluation of the effects to be care of negative or irregular reaction. However, if any treatment would be tried in order to put off the materials which may interrupt the reaction, this method may be useful and valuable to evaluate the effects of industrial wastes upon oysters in actual case, and the problem concerned with the interruption will be important for the advance of this study field.

Summary

1) The application of the dehydrogenating reaction to evaluate the effects of industrial wastes upon oysters was studied.
2) It was recognized that applying the reaction to the physiological experiment concerned with water pollution is significant.
3) It may be difficult to evaluate the effects of all kinds of industrial wastes, because some materials interrupted the reaction, but this method may be available if any treatment would be tried in order to put off the materials from the samples before incubation.

References

1) SELIGMAN, A. M. and RUTENBERG, A. M.: The histo-chemical determination of succinic dehydrogenase. *Science*, **113**: 317–320 (1951)

2) Itikawa, O.: Mechanism of dehydrogenating reaction in living cells. *Cytochemical Symposium.* **4**: 113-146
3) Brachet, J.: Biochemical cytology. Academic Press Inc. (1952)
4) Stephenson, M : Bacterial Metabolism. Longmans Green & Co. (1952)
5) Curtis, O. F.: An Introduction to Plant Physiology. McGraw-Hill Book Co. Inc. (1950)

STUDIES ON THE ADRENAL GLANDS OF TELEOSTS-VI. ON THE INTERRENAL TISSUE OF CHUM SALMON, *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM), MIGRATING UP RIVER TO SPAWN.

Mikio Oguri*

(*Received July 7, 1960*)

In the previous paper[1], it was reported that during the maturation of the gonads, hyperfunctioning histological changes occur in the interrenal bodies of the elasmobranch fish, *Narke japonica*, and therefore, such a close relationship, as that known in mammals, is observed between adrenal glands and gonads of that fish. Furthermore it was ascertained that this hyperfunctional alteration is induced experimentally in the interrenal tissue of the teleost, *Carassius auratus* injected with adrenocorticotrophic hormone[2].

The present study was carried out to investigate whether these marked histological changes occur in the interrenal tissues of teleosts under such natural condition as the spawning migration, using the chum salmon, *Oncorhynchus keta*, which come up river to spawn.

Materials and Methods

Two male and two female specimens were collected from chum salmon which were coming up Chitose River in Hokkaido for spawning in December, 1958. Their body size is 72.0–77.5 cm. in total length and 4.0–5.3 kg. in weight. Their gonads were in mature state.

For comparison, three females and one male of marine chum salmon, with immature gonads, caught in the northwestern Pacific Ocean in May, 1958, were examined. Their body size is 52.0–59.3 cm. in length and 1.5–2.0 kg. in weight.

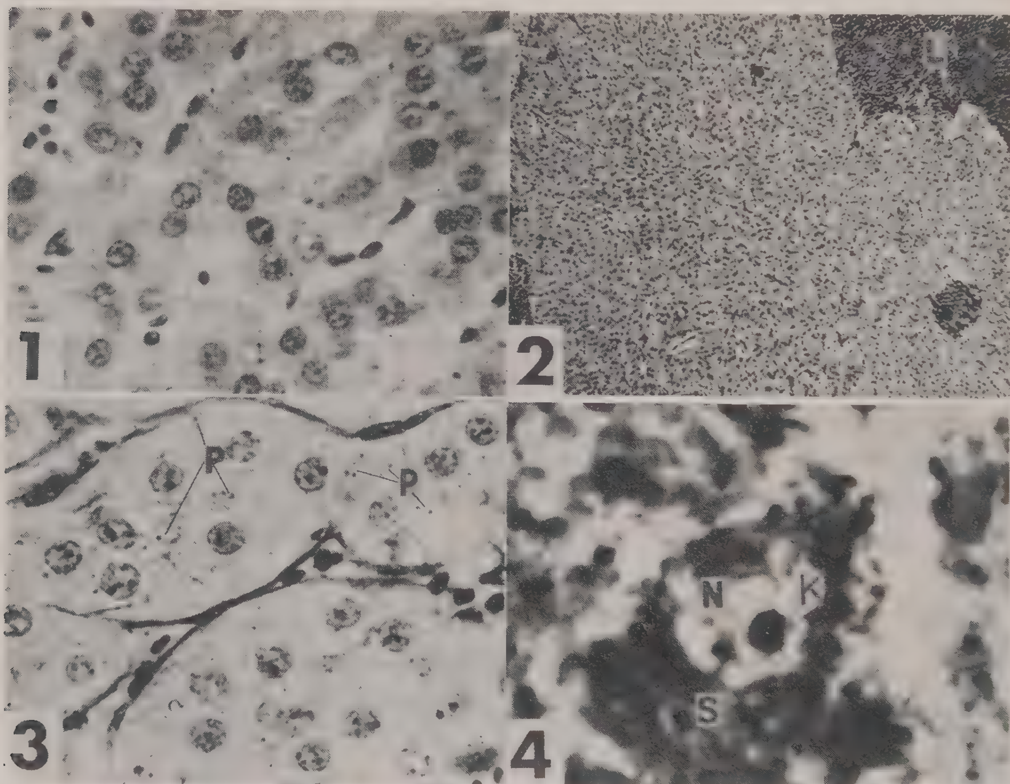
The head kidneys of these specimens were fixed in Bouin's fluid and imbedded in paraffin. The interrenal tissues situated in the head kidneys were examined microscopically, after being stained with Mayer's acid haemalum and eosin or PAS solution, Gomori's chrome-haematoxylin and phloxine, or Heidenhain's iron-haematoxylin.

Histological Observations and Discussion

As reported in the previous paper[3], the interrenal tissue of chum salmon is present inside the lymphoid head kidneys, and surrounding the branches of the cardinal vein, or situated independently apart from these branches. The interrenal cells are stained with acid dyes and contain round or oval nucleus.

* National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan (放射線医学総合研究所).

In marine chum salmon: The interrenal cell groups are packed irregularly or making cords but formation of lobules is not conspicuous (Fig. 1). Most of the cells and their nuclei are small, compared with those of chum salmon migrating up river. Almost no PAS-positive granules are observed in the cytoplasm.



Figs. 1–4. Interrenal tissues of chum salmon, *Oncorhynchus keta*.

1. Female fish caught in sea water. ×700.
2. Head kidney of female fish migrating up river. ×65. Hyperplasia of interrenal tissue is conspicuous. L, Lymphoid tissue.
3. Female fish migrating up river. ×700. Some PAS-positive granules (P) are seen.
4. Interrenal cell of female fish migrating up river. ×Ca 3000 (in oil immersion). Many siderophile granules (S) are seen in the cytoplasm. N, and K; Nucleus and nucleolus of interrenal cell.

In chum salmon migrating up river: In all specimens examined, the hyperplasia of the interrenal tissues are observed conspicuously (Fig. 2). Even macroscopically, these hyperplasia can be seen in the unstained cross-section of head kidneys fixed with Bouin's fluid, as the part of interrenal tissue is transparent yellowish-white, while the lymphoid tissue is yellow in colour. The interrenal cells are hypertrophied, forming clear cords or lobules. The formation of cords or lobules is demonstrated remarkably in the sections treated with Mayer's acid haemalum-PAS staining (Fig. 3). In all these preparations, PAS-positive coarse granules are detected in the hypertrophied

cytoplasm. These granules are round or polygonal in shape and the former ones are 0.5–1.0 micron in diameter. In preparations stained with HEIDENHAIN's iron-haematoxylin, on the other hand, interrenal cells containing many siderophile granules are observed frequently (Fig. 4). Each interrenal cell contains hypertrophied round or oval nucleus. Furthermore, mitosis is observed occasionally.

To show more clearly the hypertrophy of interrenal cells, the size of the nuclei of 250 interrenal cells from each of the four spawning specimens was measured, and compared with that of the cells of the four marine specimens. Such measurements were carried out on the round nuclei only. The results obtained are shown in Table 1. From this table it is evident that the hypertrophy of interrenal cells occurs in the chum salmon migrating up river for spawning.

Table 1. Nuclear size in the interrenal cells of chum salmon.

	No.	Sex	Number of cells measured	Mean nuclear diameter (micron)	
Specimens collected from river	1	Female	250	5.6±0.5*	5.6±0.6**
	2	〃	〃	5.7±0.5	
	3	〃	〃	5.7±0.5	
	4	Male	〃	5.5±0.8	
Specimens collected from the Pacific Ocean	1	Female	〃	6.7±0.7	6.8±0.6**
	2	〃	〃	6.8±0.5	
	3	Male	〃	7.0±0.6	
	4	〃	〃	6.8±0.6	

* Standard deviation; ** statistically significant (P=0.05)

Some investigations have been done, concerning the hyperplasia of interrenal tissue of teleosts during migration. OLIVEREAU[4] and FONTAINE et OLIVEREAU[5] reported in the Atlantic salmon, *Salmo salar* that the hyperplasia in the interrenal tissues occurs in the stage of smoltification from parr to smolt. In these interrenal cells, the nuclei and nucleoli are hypertrophied and the cytoplasm becomes vacuolated. On the other hand, ROBERTSON and WEXLER[6] examined the interrenal tissues of the following 4 species of Salmonidae having mature or immature gonads: king salmon. *Oncorhynchus tschawytscha*, blueblack salmon, *O. nerka nerka*, kokanee, *O. nerka kennerlyi* and rainbow trout, *Salmo gairdnerii*. As a result of their investigations, they ascertained that the hyperplasia of the interrenal cells occurs in the specimens sexually maturing, mature or spawning.

Histochemically, lipoid droplets, cholesterol or ascorbic acid are not demonstrated in the interrenal tissue of teleosts, as reported in the previous paper[7]. These substances are seemed to have some role on the production of cortical hormones in the adrenal glands. Therefore, it was interesting to many researchers whether or not the histochemically unique interrenal tissues of teleosts produce these steroid hormones. Recently, using sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, PHILLIPS et al[8] showed the pre-

sence of cortisol, corticosterone, cortisone and aldosterone in the blood plasma. Furthermore, FONTAINE and HATEY[9] reported that 17-hydroxycorticoids in blood plasma of Atlantic salmon, *Salmo salar*, increase in the stage of smolt. On the other hand, ROBERTSON[10], HANE and ROBERTSON[11] found that this plasma corticoids are low in immature marine king salmon, *O. tschawytscha*, but increase during the spawning migration.

Judging from the author's observations and the above mentioned reports, it is evident that in chum salmon migrating up river to spawn, the interrenal tissue is in the hyperfunctioning state. However, what factors caused this hyperfunction in the interrenal tissue: adaptation to the environmental change from sea water to fresh water or the development of gonads under conditions of starvation? Such questions still await further studies.

Summary

Histological investigations were made on the interrenal tissues of chum salmon, *O. keta*, collected from river and from the Pacific Ocean. The hyperplasia and hypertrophy of interrenal tissues were observed in the chum salmon coming up river to spawn. Accordingly, it is evident that the interrenal tissue is hyperfunctioning during migration to river for spawning.

The author wishes to express his cordial thanks to Prof. Y. SUYEHIRO and Assoc. Prof. T. HIBIYA, Tokyo University for their kind advice and encouragement. He is also indebted to Messrs. S. MORITA and K. TAKAGI, Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory, for the facilities they gave him during the collection of these specimens.

References

1) OGURI, M.: *Bull. Jap. Soc. Sic. Fish.*, **26**, 481–485 (1960)
2) ——: *Ibid.*, **26**, 476–480 (1960)
3) ——: *Ibid.*, **26**, 443–447 (1960)
4) OLIVEREAU, M.: *Ann. Endocr.* Paris **33**, 142–156 (1960)
5) FONTAINE, M. and OLIVEREAU, M.: *J. Physiol.* Paris **49**, 174–176 (1957)
6) ROBERTSON, O. H. and B. C. WEXLER: *Endocrinology* **65**, 225–238 (1959)
7) OGURI, M.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **26**, 448–451 (1960)
8) PHILLIPS, J. G., W. N. HOLMES and PHILIP, K. B.: *Endocrinology* **65**. 811–818 (1959)
9) FONTAINE, M. and HATEY, J.: *C. R. Acad. Sci.*, **239**, 319–321 (1954)
10) ROBERTSON, O. H.: *Science* **128**, 1148–1149 (1958)
11) HANE, S. and O. H. ROBERTSON: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **45**, 886–893 (1959)

衝撃による網糸の切断

永　田　　正

(1960 年 8 月 23 日受理)

BREAK OF NETTING CORDS BY BLOW

Tadashi NAGATA*

An experiment to record the strain-stress curve of netting cords suffering impact force communicated by a falling weight has been attempted, by use of a cathode ray oscillograph. The results obtained are as follows:

The strain-stress curves of the 20's 3/12 cotton cord for various conditions are as shown in Fig. 2.

The strain-strees curve described by a cotton cord broken by repeated blows is as shown in Fig. 3. The result announced by TAUTI for repeated blow test may be reasonably explained from the observation of this curve.

緒　　言

網糸を衝撃的に切断するのに必要なエネルギーの大きさを測定して，網糸の衝撃に対する強さを推定する実験は，繰り返し衝撃に対しては田内博士[1] によつて，また単一衝撃に対しては，清水[2]，近藤[3]，本多[4]，著者[5] 等によつて行なわれ，衝撃のはやさおよび衝撃を与えるおもりの重さが，上記のエネルギーにおよぼす影響について論じられてきた。

最近，近藤[6] は電磁オシログラフを用いて，網糸を衝撃的に切断する際の張力の時間的変化を記録し，破断抗張力を直接的に求め，また破断時の伸長度の推定をも行なつた。

本研究においては，衝撃によつて網糸を切断する際の，伸びと張力の関係を示す曲線を，陰極線オシログラフで撮影した。この曲線には同時にタイムマークも入れることができる。

実 験 方 法

装置の概要は Fig. 1 に示してある。鋼鉄の角棒Bを一端で水平に固定し，その根もとの上面と下面に張力測定用のストレンゲージ G を貼りつけておく。棒 B の固定してない方の端には試料となる網糸 T を結びつけ，その下端は垂直に固定されている摺動抵抗器 R の摺動子 A に結びつける。摺動子 A には別におもり W をつけた丈夫な紐 C が結びつけてある。摺動抵抗器 R の両端のターミナルの間には一定の直流電圧が加えてある。

まづおもり W を図の実線でしめしてあるようにある高さまで持ち上げて手をはなすと，図の点線でしめされているように C が伸び切つた状態になるまで落ちてきて，その瞬間から網糸 T には衝撃力が加わりはじめついには切断する。このとき糸 T の伸びは摺動子 A の移動距離に等しく，これは摺動抵抗 R の上端のターミナルと摺動子 A の間の電位差に比例するから， これを増幅してブラウン管の水平偏向板に印加する。また網糸 T に生じる張力はストレンゲージの出力電圧に比例するから， この電圧も増幅して垂直偏向板に印加する。ブラウン管の制御格子には低周波発振器から一定周波数の交番電圧を加えて輝度変調を行なつているので，螢光面上には点線状にタイムマークの入つた張力対伸長曲線が画かれる。これをフィルムに

---

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

** (印刷費負担)

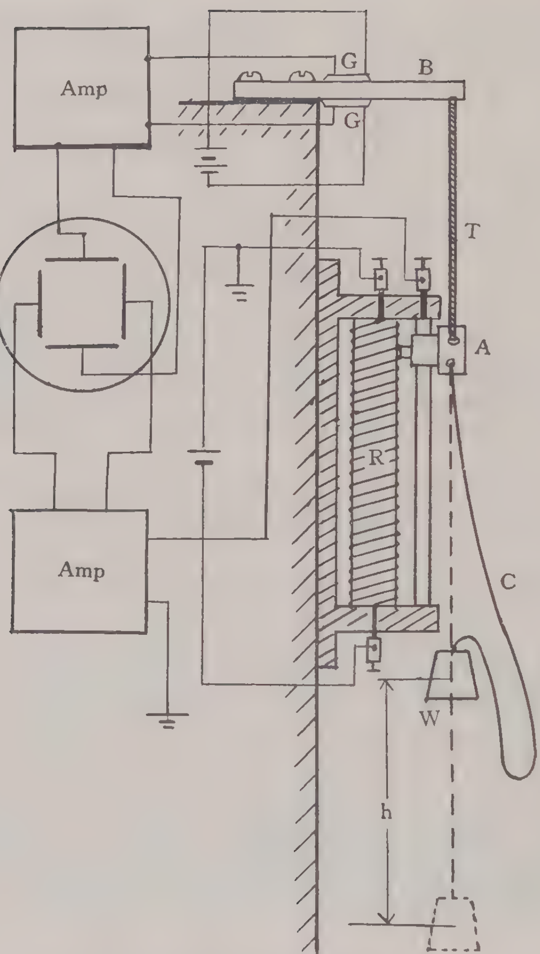


Fig. 1. The arrangement of apparatuses. B—a steel bar with rectangular section; G's—strain gauges; R—a slide rheostat; T—a test cord; C—a rope; W—a weight.

撮影する。

衝撃のはやさは最初におもりを持ち上げる高さによつて変えることができる。このはやさはあまりはやくはないから，特に高速用ブラウン管を用いる必要はない。

角棒 B の横振動の固有振動数をあまり高くすると張力測定の感度が低くなるので，厚さ 10 mm，長さ約 100 mm，固有振動数約 1000 c/s のものを用いた。

実験中さいわいにして故障はおきなかつたが，市販の摺動抵抗器をこのような目的に用いるのはいささか無暴の感がある。本実験の後で，偶力の測定を行なつた実験ではこの部分に改良を加えた[7]。

実 験 結 果

従来の衝撃の実験においては，衝撃を加えるおもりの重さ M と，はやさ v の両者の影響を調べているが，田内博士[1] も指摘されているように，両者の積すなわちおもりの運動量のみに着目すれば十分であるとの見地から，本実験においては，おもりは重さ 5 kg のもの一種類のみを用い，速度 v だけを変化させた。

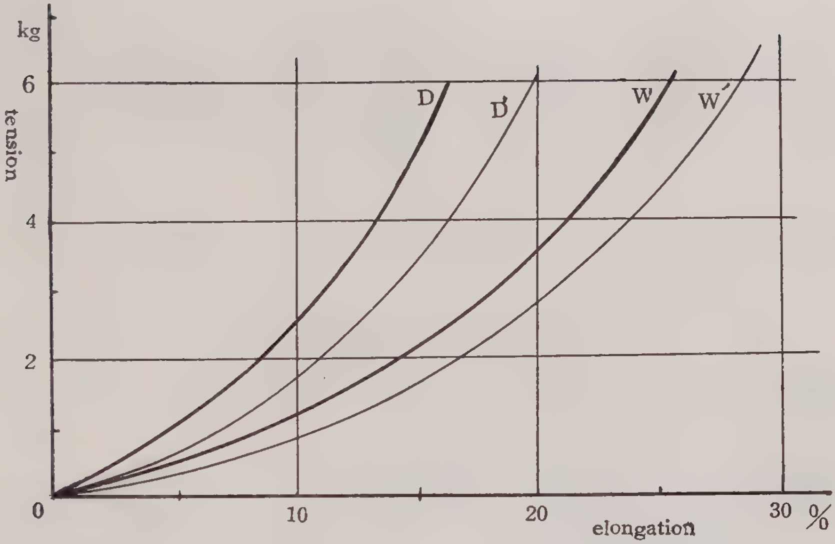


Fig. 2. The strain-stress curves of the 20′s 3/12 cotton cord for various conditions.

長さ 40 cm の四号綿糸について求めた曲線は乾いた状態においては Fig. 2 の曲線 D のごとくであり，一昼夜水につけたものについては曲線 W が得られた。また一昼夜水につけたのち再び乾かしたものについて曲線を求めると，ほとんど W の曲線と一致したものが得られた。これらの曲線の形はおもりの速度 v を 1〜3.5 m/sec 位の範囲内で変えてもほとんど変化はない。またおもり W をはずして，紐 C のはしを低速度で回転しているプーリに巻きつけ，綱糸をゆつくり（約 2.5 cm/sec）引き伸ばして切ると，乾いている糸については D′，ぬれている糸については W′ の曲線が得られた。すなわち綿糸を衝撃的に切ると，ゆつくり切る場合にくらべて，破断抗張力ならびに破断伸長度は減少をしめす。

おもりを持ち上げる高さが小さく，Mgh が切断エネルギーより小さければ，糸は一回の衝撃では切れないで，田内博士の繰り返し衝撃の実験になる。長さ 40 cm の六号綿糸では h を 10 cm 以上にすると一回の衝撃で切れるが，Fig. 3 は h を 5 cm にして四回の衝撃で切れた場合の伸びと張力の関係をしめす曲線

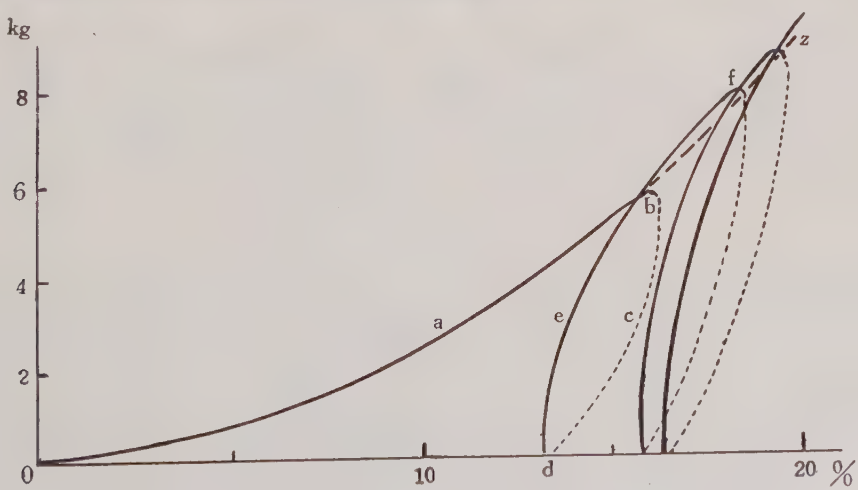


Fig. 3. A typical strain-stress curve of the 20′s 3/18 cotton cord broken by repeated blows. abscissa: elongation; ordinate: tension.

である。一回目の衝撃では曲線 oab に沿つて b 点に到つてとまる。もし h が十分大きければ b でとまらずに更にほぼ破線の曲線に沿つて z に到つて切れてしまうはずである。おもりを除くと b から点線 bcd に沿つて d にもどり，od に相当する伸びがのこり，つぎの衝撃では def なる曲線に沿つて進み，以下同様のことを繰り返して切断される。h が更に小さければ曲線 oab の長さは短かくなり，切断までに必要な衝撃の繰り返し回数は多くなる。すなわち h が小さい程切断エネルギーは大きくなり，田内博士の結果[1]と一致する。

本実験では今までの衝撃の実験と同じく重錘落下の方法を用いたが，この方法では糸を一定速度で伸ばすことができないし，衝撃速度もあまり大きくはできない。この点を今後の課題にしたい。

文　　献

1) 田内森三郎：水講試報，**23**，26 (1927).
2) 清水房雄：本誌，**6**，243 (1938).
3) 近藤　仁：本誌，**5**，171 (1937).
4) K. Honda: J. Tokyo Univ. Fish., **38**, 63 (1951).
5) T. Nagata: 〃 〃 **40**, 75 (1953).
6) 近藤　仁：本誌，**26**，397 (1960).
7) 永田　正：本誌，**26**，868 (1960).

カツオ幽門垂中の未知因子に関する研究—III.
未知因子の分離法およびその性質

柿　本　大　壱

(1960 年 4 月 8 日受理)

STUDIES ON THE UNKNOWN FACTOR IN THE PYLORIC COECA OF SKIPJACK—III. ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF THE UNKNOWN FACTOR

Daiichi KAKIMOTO*

A process for extracting the unknown factor from pyloric coeca of skipjack was schemed out as shown in Fig. 1.

A preliminarily obtained crystalline crude preparation (Fraction I) was divided into two fractions according to the solubility in a mixture of alcohol and ether.

Aside from the insoluble fraction (Fraction II) a soluble fraction (Fraction III) which also proved as crystallizable was further fractionated into the fraction (Fraction IV) adsorbed on a cation-exchanger, Amberlite IRA-400.

The aforesaid five fractions were examined of their promotive effect on the acid formation of *Leuc. citrovorum* on the one hand and of their ultraviolet absorption on the other.

The crystalline but still crude preparation obtained as Fraction IV seemed to have advanced fairly in purity, strongly activating *Leuc. citrovorum* even at a concentration of 40mγ/cc.

Mutual comparison of ultraviolet absorption spectra of said five fractions has led to a conclusion that no special absorption peak can be assigned to the unknown factor, though absorption in the range of shorter wave lengths was gradually enhanced with the advance of purification (see Fig. 4).

Ionoelectrophoretic runs were carried out with Fraction IV, patterns resembling those of CF and folinic acid, respectively, being obtained (Fig. 5).

第 I，II 報で著者はカツオ幽門垂には *Leuc. citrovorum* の発育を促進する CF (フォリン酸) 以外の未知因子が存在することを繰返えし主張して来た。この未知因子の本体を究明するための必要から，本報では前の報告にしばしば記載したこの未知因子フラクションの諸性質を利用し，なお新しい創意を加えてその分離濃縮を試みた。以下この試みの結果を報告する。

実験結果および考察

I. 未知因子の分離濃縮:

未知因子は酸，アルカリに比較的安定である。またイオン交換樹脂に対しては Amberlite IRA-400 (その後の試験では IRA-410 でも全く同じような結果を得ている) で良く交換されるが，その他の Amberlite 樹脂には殆んど交換されない。その他諸種の沈澱剤でも沈澱しない等の諸性質を組合わせ利用すると，ある程度濃縮の可能性がある。さらに前回までには一度も述べていないが，未知因子は pH 5.0 附近で活性炭に吸着され，アンモニア性アルコールで良く脱着されることを知つたので，以上のような原則を適宜に用い，**Fig. 1** に示した分離濃縮法を考案した。新鮮な幽門垂約 1kg をホモヂナイズし，M/10 酢酸，M/10 酢酸

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).

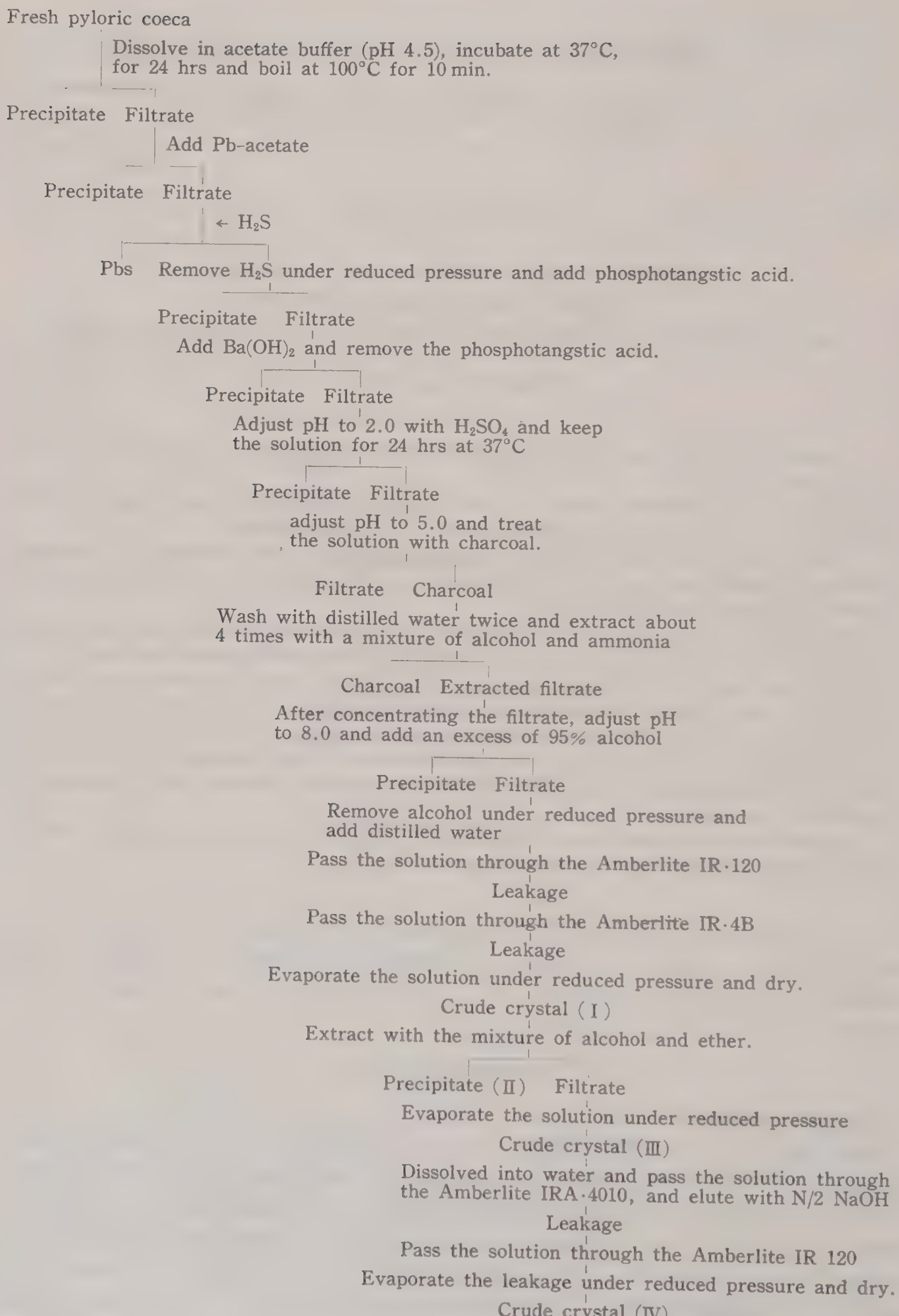


Fig. 1. General scheme for separation of unknown factor from pyloric coeca of skipjack.

ソーダからなる緩衝液 (pH 4.5) 3l に懸濁する。直ちにトルオールを加え 37°C, 24 時間自己融解してから, 10 分間煮沸して酵素作用を停止させる。自己融解を終えた試料には多量の沈澱が生じるので, これを沪除する。つぎにこの沪液に 10% の酢酸鉛溶液を加え, 生じた沈澱を再び沪別し去る。沪液中の過剰な酢酸鉛は硫化水素を吹き込んで, 硫化鉛として沪別し去り, 沪液は減圧下で濃縮して, 硫化水素を完全に除去する。硫化水素を除いた溶液に燐タングステン酸溶液 (5% 硫酸で 10% 濃度の燐タングステン酸溶液を調製する) を加え, 一夜放置し最早や上澄液が燐タングステン酸溶液では沈澱を生じないことを確め, 沈澱を沪別する。この沪液には過剰の燐タングステン酸が含まれているので, バリタでこれを中和してタングステン酸バリウムの沈澱をつくり, これを除く。以上の操作では幽門垂中の CF はそのまま含まれているので, この溶液に稀硫酸を加え pH を 2.0 とし, 25°C, 30 時間放置し CF の活性を停止させる。つぎに該液は稀苛性ソーダで pH を 5.0 にしてから活性炭 (特選) 40 gm を加え, 1〜2 時間振盪して未知因子を吸着させる。沪液は *Leuc citrovorum* に対する活性を示さない。この活性炭は蒸溜水で数回洗滌した後 30% のアルコールで 2 回洗滌を繰返えす。洗滌した活性炭は真空デシケータ中で乾燥してから 30% のアルコールおよび濃アンモニア (20: 1) の混液約 800 cc で抽出を行う。抽出液は減圧下 (60°C 以下) で濃縮し全容約 20 cc となし, 稀硫酸を加えて pH を 8.0 に調製した後無水アルコール 200 cc を加えて放置すれば白色の沈澱を生ずる。この沈澱は *Leuc. citrovorum* の活性を示さないので捨て去り, 沪液部を濃縮すればシラップ状淡黄褐色の溶液 10 cc が残る。該液は強い活性を示すので, さらにイオン交換樹脂により不純物を除去する。シラップ状の液は水で稀釈し, Amberlite IR-120, 100 cc のカラムを毎分 3 cc の流速で通過させる。流出液は引続き Amberlite IR-4B, 50 cc を通過させると流出液の pH は 6.7 を示し, 減圧濃縮すれば次第に淡褐色の沈澱を生じる。かくして 100 mg の無定形結晶を得たので, 直ちにデシケータ中に保存した。つぎにこの粗結晶を蒸溜水に溶解し, 毎 1 cc 中 5, 0.5, 0.05, 0.005, 0.0005 mg 宛含まれるように調整した各試料の response を *Leuc. citrovorum* で試験した。37°C, 72 時間培養で生産される酸度についての結果は **Fig. 2** の通りである。この試験によると, 1 cc に 5 mg から 0.005 mg までの試料は全て同等の response を示し, 酸生成の Maximum を示したので, さらに最高の酸生成を示す限界濃度を知るため 1 cc 中 0.005 mg の試料を稀釈し, 前記同様の試験を行った。**Fig. 3** にその結果を示す。すなわち黄褐色の無定形結晶は 0.0045 mg, 1 cc (4.5γ/cc) で菌を最高に繁殖させることができる。しかしながらこの無定形結晶が純粋な一種類から成る化合物であると断言することはできない。著者はなお幾多の不純物を含んでいるものと予想し, さらにこの結晶をアルコールとエーテルの等量混合溶液で振盪した。約 3 時間連続振盪したうえ一夜放置し, 可溶部と不溶部に分ち, 可溶部は溶媒を減圧下で蒸発し去り, 不溶部は数回前記の溶媒で洗滌し, 乾燥した。両者の収量は可溶部約 80 mg, 不溶部 2 mg である。両試料各 5 mg を稀釈し *Leuc. citrovorum* の response を試験した結果, アルコール・エーテル可溶部からえた結晶は 0.00005 mg, 不溶部の結晶は 0.5 mg で各々菌の発育を最大に促進することが知られた。もちろんこの活性判定法は厳密な方法とはいい難いが, とにかく可溶部の物質は不溶部に比べ約 1 万倍の活性を示したことになる。若し不溶部の結晶が全くの不純物とするならば前記の収量からみて約 15% の不純物が含まれていたことになる。ア

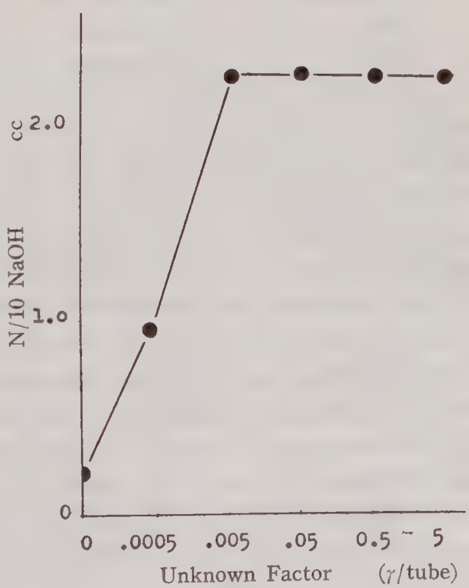


Fig. 2. Response of *Leuc. citrovorum* to the unknown factor at various concentrations.

ルコール・エステル可溶部の物質は 50mγ/cc で最高度に *Leuc. citrovorum* の発育を促進させるが，著者が用いた CF では 0.15mγ/cc である。これに比較すると未知因子の活性は 1/100 にもおよばないことがわかる。以上のごとくアルコール・エーテル可溶の未知因子区分は，更にイオン交換樹脂 Amberlite IRA-400 を通して交換せしめ，樹脂を蒸溜水で充分洗滌してから N/2 NaOH で脱着し，脱着液中のアルカリを Amberlite IR-120 で除去後減圧濃縮し乾固して粉末状の結晶をうる。この粗結晶を稀釈し前記同様菌の活性を検べた結果は 40mγ/cc で前回よりさらに濃縮されていることがわかる。

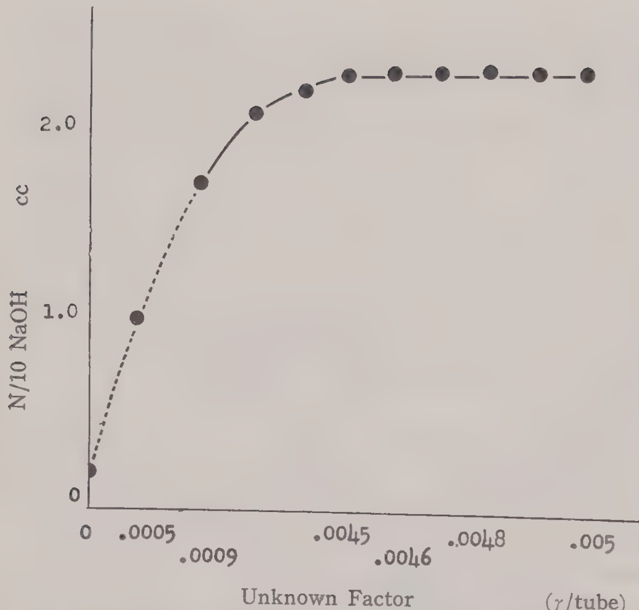


Fig. 3. Response of *Leuc. citrovorum* to the unknown factor at various concentrations.

II. 未知因子と吸光度:

未知因子はその分離，精製が進むにしたがつて微生物に対する活性度を増すが，かかる活性度だけから未知因子が純粋にされたか否かを判断することはできない。未知因子の研究はさらに理化学的な多くの手段による必要がある。この章では未知因子がどのような吸光曲線を描くかをしらべた。これはまた，CF 等のプリテン誘導体と比較検討するためでもある。もとより物質特有の吸光度は純粋な化合物によつて示されるが，本研究は前にも述べたように分離過程のものであるから，曲線の追跡によつて大凡を推定するに過ぎない。試料は前章で述べた未知因子の分離法にしたがつてえた粗結晶，すなわち **Fig. 1** (I) (Amberlite IR-120, IR-4B の樹脂を通過させたもの)，さらに (I) の粗結晶をアルコール・エーテル等容混合液で不溶，可溶に区分したもの (II), (III), ならびに (III) の区分を Amberlite IRA-400 で交換しアルカリで脱着した区分 (IV) の4種類を用い，比較するために CF 結晶を同時に試料とした (V)。各試料は pH 7.0 の M/10 燐酸塩緩衝液に溶解し，1γ/10cc の濃度に調製した。また，吸光度の測定は日立製分光光度計を用いた。**Fig. 4** はその結果である。すなわち前章の実験で明らかなように (IV) は Amberlite IRA-400 で交換した *Leuc. citrovorum* に最も強い活性を示した区分はその他の区分に比較して 263mμ の peak が低いことがわかる。また (II) の区分は反対に 263mμ の peak が最大であるが生物活性は殆んど認められない。したがつて 263mμ を示す物質は未知因子とは無関係な不純物によるものと思われる。pH 7.0 では Folic acid, Lact. casei factor, vitamin B_c は 270～280mμ 附近に吸光度の山が認められることが知られておりまた Xanthopterin 等でも中性では同じような山型が認められるが，試料 (V) CF は著者の実験でも pterin 類の示す山型を示している。一般に pterin 類，Alloxazine 類等の ring structure の物質と未知因子はこれらの諸実験の結果からもかなり相違した物質であると予想される。263mμ を示す化合物は，各種呈色反応ならびに沪紙クロマト法によつて検べた結果 Uacil であることがわかつたが，本報告ではこれを割愛し，後日報告するつもりである。結局，未知因子は目下のところ特定の Peak を示さない物質であることがわかつた。

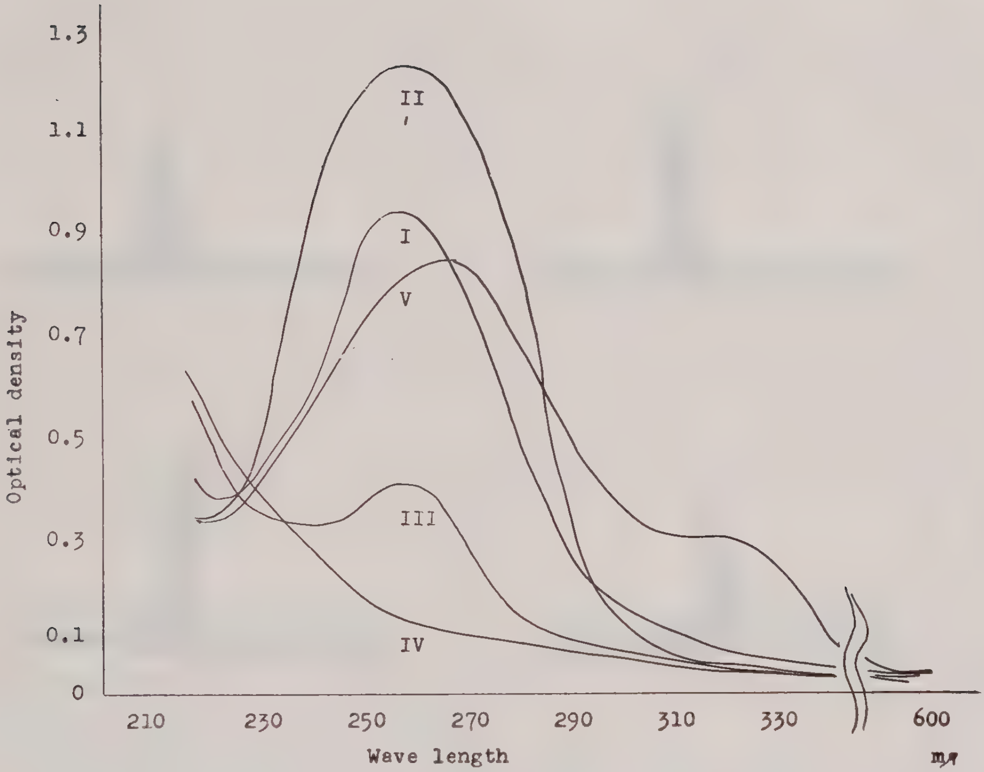


Fig. 4. Absorption spectra of fractions prepared in the refining process of the unknown factor extracted from pyloric coeca (from I to IV····See Fig. 1, V····Lederle CF).

III. 未知因子と沪紙電気泳動:

すでに未知因子に関する諸性質を述べて来たが，本章ではその一つである未知因子の沪紙電気泳動について述べる。ビタミン類の電気泳動ではすでに Ericson[8] らがビタミン B_{12} 類について行つているが著者も氏らの方法を参考にした。試料は第 I 章に述べた方法で分離した粗結晶 IV，および CF を用い，電気泳動には東洋沪紙株式会社製 II 型，緩衝液には燐酸塩のほか酢酸塩，グリシン・塩酸，グリシン・苛性ソーダを用いた。沪紙電気泳動の諸条件は **Table 1** の通りである。泳動後の沪紙は幅 0.5 cm に切り蒸溜水で抽出した後 *Leuc. citrovorum* の活性を検べた。**Fig. 5** は泳動の結果を示したものである。すなわち未知因子は

Table 1. Conditions of paper ionophoresis.

No. of runs and the kind of sample employed		Kind and size of the filter paper used	Buffer solution (pH)	Voltage (vdt)	mA	Time of each run. (hr.)
Unknown factor	1	Toyo filter paper 34×15 cm	Phosphate (6.0)	500	15	2.5
	2		Acetate (4.0)	300	10	2.0
	3		Glycine HCl (3.0)	500	15	4.0
	4		Glycine NaOH (10.0)	300	10	2.0
	5		〃 (11.0)	500	15	4.0
	6		Phosphate (4.0)	580	15	4.0
	7		〃 (7.4)	580	15	4.0
CF	8		〃 (7.4)	580	15	4.0

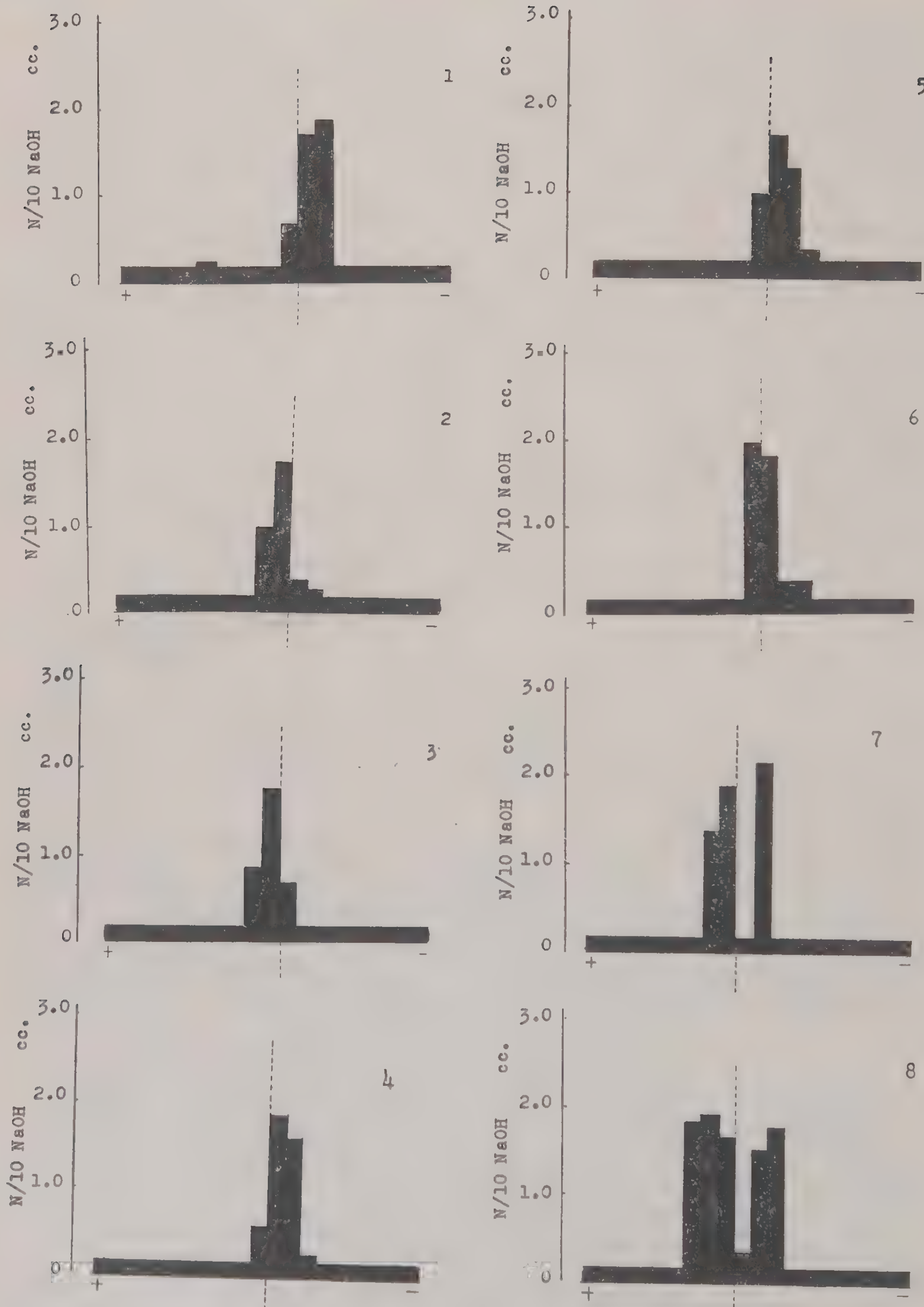


Fig. 5. Bioautography of electroionophoretic patterns of the unknown factor (1∼7) and folic acid (8), determined according to their activation of *Leuconostoc citrovorum*. Numbers in the figures are similar to those of runs in Table 1.

比較的泳動し難い物質であり，かなりの電圧でも泳動し難いことから等電点が中性附近の物質を予想させる。なお緩衝液の pH および電圧の変化等である程度の可動も考えられるが，著者の実験では燐酸塩緩衝液 pH 7.4，580 V，15 mA，4 時間で陰極にわずか移動さすことができた。この方法では活性を示す Pattern が二つに分かれ，同一の条件で CF も良く類似の Pattern を示す。普通の沪紙クロマト法では明瞭に未知因子と CF が分離されるに拘わらず，電気泳動では両因子の間は殆んど差があらわれない。

論　　義

未知因子の濃縮法は活性炭に吸着，アンモニア性アルコールで脱着する方法，ならびに Amberlite IRA-400 で交換吸着，苛性ソーダで抽出する等の方法でかなり成果が期待しうることがわかつた。葉酸およびその関連物質は殆んどが活性炭吸着で分離されていることから著者は葉酸の関連物質と予想していたが，今回の研究結果からは構造上では必ずしも葉酸類とは関係がない物質と思われる成績をえた。特に未知因子の吸光曲線からみると，このことは O' DELL[4] らがビタミン B_c，ならびにプテリン類の吸光曲線を測定した成果と比較することによつで確証をえられよう。すなわち氏らの結果ではプテリン類の殆んど全てが 280 mμ 附近に極大波を有することを報告している。したがつて最早や未知因子はその成分組成ならびに構造上では何ら CF ならびに関連物質とは一致しないというべきである。

結　　論

1. 未知因子を濃縮，分離する方法を考案し，ある程度その成果を挙げることができた。すなわち **Fig. 1** に示した方法によつて得た粗結晶をさらにアルコール・エーテルの混合液で精製し，最後に Amberlite IRA-400 で交換する方法にしたがえば *Leuc. citrovorum* の活性を最高にさせるに要する未知因子の濃度は粗結晶を用いた場合 50 mγ/cc である (Figs. 1～3)。
2. 未知因子の紫外部吸光曲線を測定した結果，短波長に向かつて Optical Density が上昇し，特定の Peak を示さない物質が予想され，Pterin 類とは異なつた種類の物質であることがわかつた (Fig. 4)。

本研究に御教示を賜わつた北大農学部中村幸彦先生，鹿大水産学部柏田教授，ならびに実験に協力して頂いた金沢昭夫君に深謝の意を表す。使用した菌は発酵研究所の長谷川氏の好意によつたものであり併せて謝意を表す。

文　　献

1) 柿本大壱： 本誌 **26**, 759 (1960).
2) 　　　　： 本誌 **26**, 765 (1960).
3) L. E. ERICSON, Z. G. BÁNHIDI and G. GASPARETTO: Acta. Chem. Scand. **6**, 1130 (1952).
4) B. L. O' DELL, J. M. VANDENBELT, E. S. BLOOM and J. J. PFIFFNER: J. Am. Chem. Soc. **69**, 250 (1947).

カツオ幽門垂中の未知因子に関する研究—IV.

未知因子粗結晶の性質

柿 本 大 壱

(1960 年 4 月 8 日受理)

STUDIES ON THE UNKNOWN FACTOR IN THE PYLORIC COECA OF SKIPJACK—IV. CHARACTERIZATION BY BIOASSAY OF A CRUDE CRYSTALLINE PREPARATION OF THE UNKNOWN FACTOR.

Daiichi KAKIMOTO*

Through bioassay of a crude but crystalline preparation of the unknown factor the following facts were ascertained:

1) The unknown factor contains none of the known B vitamins, though it resembles folic acid in animating *S. faecalis*; the absence of folic acid has already been confirmed from the study of ultraviolet absorption.

2) The unknown factor promotes the growths of *Pediococcus*-884 and *Pediococcus*-1754.

3) The unknown factor can promote the growth of *Leuc. citrovorum* far more strongly than the nucleoside and the like obtainable through the hydrolysis of thimidine and desoxyribonucleic acid both known as the materials promoting the growth of *Leuc. citrovorum.*

Leuconostoc citrovorum の発育を促進する物質として知られている CF (フォリン酸) は，葉酸のフォルミール化合物で，プテリン類に属する。これらの物質は主として抗貧血因子として研究され，併せて各種細菌に対する発育促進効果が追究された。*Lactobacillus casei* factor や **SLR** factor の発見はこれら一連の研究の成果といえよう。カツオ幽門垂の中に *Leuc. citrovorum* の発育を促進する未知因子が存在し，その因子が著者[1]の手である程度濃縮され，さらに粗結晶 (ただし，前報までの成績ではこの結晶が単一の物質であるとは断言し難い) を分離することができたが，若し未知因子が既往の研究に示されたように *Leuc. citrovorum* 以外の細菌に対してもなんらかの発育促進効果があるとすれば，未知因子の特性を一層明らかにする可能性が生まれる。また CF がプテリン，PABA，グルタミン酸からなるように未知因子が幾つかの化合物から成るものとすれば，加水分解によつてえられる試料の各々の成分についても明らかにする必要がある。本研究は未知因子と各種乳酸菌の関係，および未知因子加水分解物中に主として B 群ビタミンが存在するか否かを研究したものである。

実験結果ならびに考察

I. 未知因子粗結晶の各種乳酸菌の発育に対する影響:

前報で述べた未知因子粗結晶 1 mg を蒸溜水 100 cc に溶かし，その 1 cc 中に含まれると予想される B 群ビタミンを Bioassay 法で測定した。用いた菌および測定したビタミンの種類は **Table 1** に示した通りである。実験法は各菌の基礎培地 1 cc に試料溶液 1 cc を加え，常法にしたがい濁度法の場合は 16 時間培養，酸度滴定の場合は 72 時間培養した。**Table 1** はその成績を示したものである。これによると粗結晶中

* 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).

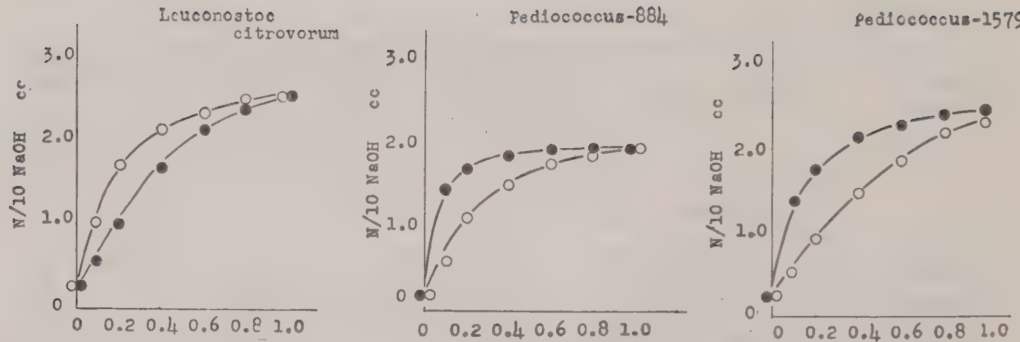
Table 1. B vitamins in the unknown factor (Crude crystal and its hydrolysate)

Kinds of B vitamin	Assay organisms	Content of B vitamins in unit mg% of the crude crystal.	Content of B vitamins in unit mg% of the hydrolysate of the crude crystal.			
			5% HCl	10% HCl	15% HCl	25% HCl
B_1	*Lact. fermenti*	0	0	0	0	0
B_2	〃 *arabinosus*	0	0	0	0	0
B_6	*Saccharomyces carlsbergensis*	0	0	0	0	0
Niacin	*Leuc. mesenteroides*	0	0	0	0	0
Pantothenate	*Lact. arabinosus*	0	0	0	0	0
B_{12}	〃 *leichmannii*	0	0	0	0	0
Folic acid	*Streptococcus faecalis*	0.04	0.04	0.006	0	0
CF	*Leuc. citrovorum*	0.05	0.05	0	0	0
Biotin	*Lact. arabinosus*	0	0	0	0	0
PABA	〃 〃	0	0	0	0	0
Inositol	*Neurospore crassa* (*mutant* 37401)	0	0	0	0	0
Choline	〃 (〃 34486)	0	0	0	0	0

には CF，葉酸以外には **B** 群ビタミンは含まれていないことがわかる。しかるにすでに述べたように，この粗結晶は紫外部吸収波が CF や葉酸と全く異なるという知見をえているので，この実験における見掛け上の *S. faecalis* の葉酸に対する response は，粗結晶中に葉酸が含まれてることを示しているのではなく，実は未知因子が *Leuc. citrovorum* に対してと同様に *S. faecalis* に対しても葉酸の代りをすることを示しているものと解釈される。つぎに粗結晶 1mg に 5, 10, 15, 25% の塩酸を 1cc 加え通常の方法で 24 時間加水分解をした後減圧濃縮を繰返えし塩酸を除去し，少量の水を加え稀苛性加里溶液で pH を 6.8, 全容を 10cc に調整した。以上のような処理を行なつた酸加水分解溶液を試料にして **B** 群ビタミンを測定した結果も **Table 1** の通りで，葉酸，CF 以外の response は認められなかつた。本実験で明らかなように未知因子は従来まで知られている **B** 群ビタミンがこの因子の構成に関与してはいない。

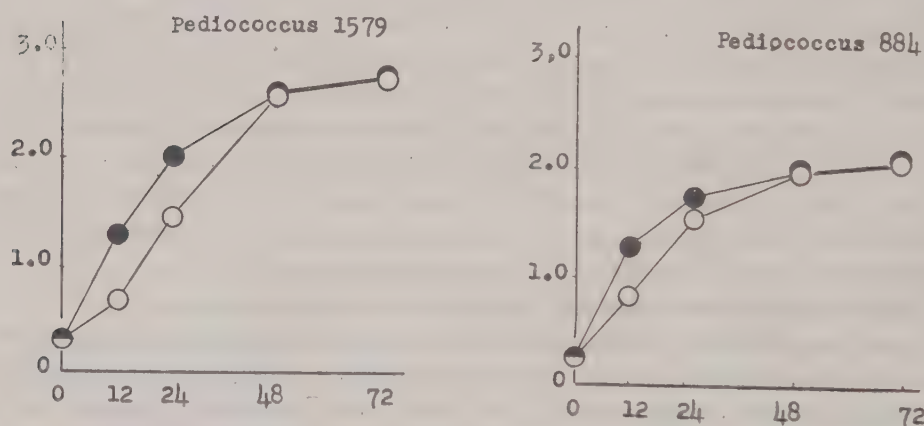
II. 未知因子粗結晶の *Pediococcus*-884, *Pediococcus*-1579 発育促進に対する効果:

児玉氏が *Leuc. citrovorum* とは異なる菌 *Pediococcus* sp. をバラの花から分離し，***Pediococcus*-884**，ならびに ***Pediococcus*-1579** とした。著者はこれら二種類の菌を用い，CF および未知因子が菌の発育にどのような効果を示すかについて試験してみた。すなわち CF については Lederle 製の Leucovorin (0.15 mγ/cc) を，また未知因子については著者の分離した粗結晶を 35 mγ/cc に調製した水溶液（*Leuc. citrovorum* はこの粗結晶 30 mγ/cc で最高の発育を示す）を試料にした。*Pediococcus* sp. の基礎培地は目下のところ不明であつたので，CF 定量に用いる *Leuc. citrovorum* のものを使用した。保存培地および摂種菌用培地は全く普通用いているものに牛肝臓，カツオ幽門垂エキス，ならびに乳清を加えて強化したものを使用した。実験は粗結晶 35 mγ を 1cc の水に溶解した原液をそれぞれ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0cc 試験管にとり基礎培地 1cc を加えた後全容を 2cc にし，これに摂種菌をうえ 37°C, 72 時間培養で示された菌の発育を酸度であらわした。**Fig. 1** はその成績であり，CF と未知因子がそれぞれ *Leuc. citrovorum* および *Pediococcus*-**884**，**1579** 菌に示した発育促進効果の相違を図示したものである。これによると *Pediococcus* sp. の両者はともに *Leuc. citrovorum* よりも未知因子に敏感に発育することがわかる。しかし *Pediococcus* の場合でも CF が 0.15 mγ/cc で最高の response を与えるのに比べて未知因子はほぼ 200 倍の濃度を要する点では *Leuc. citrovorum* の場合と同様である。つぎに *Pediococcus* の双方とも 72 時間培養の各時間における response を未知因子ならびに CF について測定した結果は **Fig. 2** の通りであつた。この実験によると未知因子は 24 時間以内では CF の response よりもやや高いことがわかつた。これらの事実に対する原因は目下のところ不明である。



Abscissa; number of cc of 0.1N NaOH required in neutralization.
Ordinate; number of cc of a solution of the unknown factor added to 2cc of a diluted cultivation medium, said solution containing 1mg of the crude but crystalline preparation of the unknown factor as dissolved in 100cc of distilled water.
-●- ····Response to the unknown factor, -○- ····Response to CF.

Fig. 1. Responses to the unknown factor of *Pediococcus* sp. and *Leuc. citrovorum*.



-○- ····Response to CF, -●- ····Response to the unknown factor.

Fig. 2. Time response of *Pediococcus* sp. to CF or to the unknown factor.

III. 未知因子と核酸:

核酸が *Leuc. citrovorum* の発育に CF と相互関係[2] があるといわれている。富山氏[3] らは魚類肝臓中に含まれている抗貧血成分の研究中活性炭に吸着される物質のあるものが *Leuc. citrovorum* の発育を促進し，その物質は Thimine と関連した物質であると報告している。著者は Thimine をはじめ核酸の塩基類および DNA (Desoxyribonucleic Acid)，さらに DNA を 2% の硫酸で分解してえた Nucleotide 区分，5% の硫酸で分解してえた Thimine と糖よりなる区分等について，*Leuc. citrovorum* の発育効果が如何程あるかを試験した。また同時に未知因子の効果がこれらの核酸によつて影響されるか否かも検べた。実験の成績は各々 **Table 2** および **Table 3** の通りである。すなわち多くの塩基中 Thimine，DNA および DNA の分解区分は 300γ/2cc 以上でやや菌の発育を促進するがあまり顕著とはいい難い。また 30mγ/2cc の未知因子粗結晶に各種塩基ならびに DNA 等を加えた場合の相乗効果は殆んど認められなかつた。

Table 2. Response of *Leuconostoc citrovorum* to nucleic acids.

Amount of the nucleic acid added to the basal medium	Response of *Leuc. citrovorum* to various components of nucleic acids N/10 NaOH (cc)							Hydrolysate of DNA with 2% H_2SO_4	Hydrolysate of DNA with 5% H_2SO_4
	Uracil	Hypoxanthine	Adenine	Guanine	Cytosine	Thimine	DNA		
0 mγ	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
0.5 〃	0.12	0.12	0.11	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
1.0 〃	0.13	0.12	0.12	0.10	0.12	0.12	0.12	0.11	0.11
10.0 〃	0.12	0.13	0.12	0.12	0.11	0.11	0.13	0.12	0.11
100.0 〃	0.13	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	0.12
500.0 〃	0.12	0.12	0.13	0.11	0.11	0.11	0.14	0.12	0.14
1.0 γ	0.11	0.12	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12	0.14	0.15
10.0 〃	0.14	0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	0.14	0.13	0.14
100.0 〃	0.12	0.13	0.13	0.12	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15
200.0 〃	0.13	0.12	0.12	0.11	0.12	0.12	0.14	0.15	0.14
300.0 〃	0.14	0.11	0.12	0.12	0.11	0.14	0.16	0.16	0.15
400.0 〃	0.12	0.11	0.13	0.11	0.12	0.16	0.17	0.17	0.16
500.0 〃	0.15	0.10	0.12	0.12	0.11	0.10	0.17	0.16	0.18

Table 3. Response of *Leuconostoc citrovorum* to the unknown factor added with nucleic acids.

Amount of the nucleic acid added to the basal medium containing 30 mγ of the unknown factor.	Response of *Leuc. citrovorum* to various components of nucleic acids and unknown N/10 NaOH (cc)							Hydrolysate of DNA with 2% H_2SO_4	Hydrolysate of DNA with 5% H_2SO_4
	Uracil	Hypoxanthine	Adenine	Guanine	Cytosine	Thimine	DNA		
0 mγ	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
0.5 〃	2.2	2.3	2.2	2.3	2.1	2.3	2.1	2.3	2.2
1.0 〃	2.3	2.1	2.0	2.3	2.3	2.4	2.3	2.3	2.3
10.0 〃	2.2	2.3	2.3	2.1	2.2	2.1	2.3	2.0	2.3
100.0 〃	2.2	2.2	2.3	2.3	2.2	2.0	2.1	2.1	2.1
500.0 〃	2.3	2.2	1.8	2.3	2.2	2.0	2.0	2.9	2.3
1.0 γ	2.4	2.2	2.3	2.4	2.3	2.2	1.8	2.0	2.2
10.0 〃	2.3	2.0	2.2	2.5	2.1	2.3	1.9	2.0	2.1
100.0 〃	2.3	2.1	2.4	2.3	1.8	2.2	2.0	2.3	2.2
200.0 〃	2.3	2.0	2.5	2.4	2.4	2.3	2.1	2.0	2.2
300.0 〃	2.2	2.9	2.0	2.1	2.3	2.4	2.3	2.1	2.3
400.0 〃	2.1	2.0	2.3	2.3	2.2	2.4	2.3	2.2	2.1
500.0 〃	2.1	2.3	2.3	2.2	2.3	2.6	2.2	2.1	2.3

Table 4. Response of the unknown factor (crude crystal) to several kinds of reagents.

Reactions or reagents	Detection	Note
Biuret reaction	−	Peptide
Protein reaction (Folin)	−	Protein
〃 (TCA precipitate)	−	〃
Murexide reaction	−	Nucleic acid
Kossel reaction	−	〃
Diazo reaction	−	〃
Ninhydrine reaction	−	Amino acids
Morlish reaction	+	Saccharide
Orcine reaction	+	Pentose
Fehling reaction	−	Reducing sugar
Anthron	−	Saccharide
Aniline phythalate	−	〃
Erlich reaction	−	Amino sugar

したがつて著者の行なつたこれら研究の結果では未知因子は核酸に関係のある物質とは思われない。しかしながら未知因子粗結晶を用い核酸と関係のある呈色反応を検べた結果は **Table 4** の通りであり，ほとんどの反応が陰性で糖反応のみが陽性であつた。糖反応中ではオルシン反応，モルリッシュ反応が陽性で，他の還元糖反応は陰性であることを知つた。本研究の結果未知因子が糖と密接な関係を有する物質であるような成果を得たが，引続き構成諸成分を明らかにする必要がある。

考　　　　察

第1報から3報まで未知因子がすでに CF と全く異なる物質であることを主張してきたが，さらに本報告ではその事実を明確にするとともに，*Leuc. citrovorum* に関係のある核酸および関連物質についても比較研究をすすめた。その結果未知因子は核酸の塩基ではないことならびに Nucleotide や Nucleoside でないことを明らかにした。しかしながら未知因子は糖反応でオルシン反応を示し五炭糖が構成分の一部であるような結果をえている。核酸の塩基が存在しないことは，粗結晶の紫外部吸収波からも明確なので疑いのない事実である。

要　　　　約

1. 未知因子の粗結晶に B 群ビタミンが存在するかどうかを Bioassay 法で確めた結果，*Leuc. citrovorum* に response を示す以外に *S. faecalis* に respond する葉酸のごとき性質を示したが，未知因子の粗結晶が紫外部吸収波でプテリン類をあらわす peak を有しないのでプテリン同族体ではないこと，またプテリン系以外の既知 B 群ビタミンについてもそれらは全く含んでいないことを知つた。

2. 未知因子は *Lauc. citrovorum* とは別に *Pediococcus*-**884**，および *Pediococcus*-**1579** 菌に対しても発育促進の効果を有することを知つた。

3. *Leuc. citrovorum* の発育を促進する成分として知られている Thimidine，あるいは desoxyribonucleic acid の分解でえた Nucleoside，Nucleotide 等と未知因子を比較した結果，*Leuc. citrovorum* の発育促進効果はこれらの核酸類よりも未知因子の方が遙かにすぐれていることを知つた。

本研究に御教示を賜つた北大中村幸彦先生，鹿大柏田研一教授，ならびに実験に協力して頂いた金沢昭夫君に，さらに菌を分譲して下さつた醗酵研究所の長谷川武志氏，および児玉氏に謝意を表する。

文　　　　献

1) 柿本大壱： 本誌，**26**，(1960)．
2) T. H. JUKES, H. P. BROQUIST, E. L. R. STOKSTAD: Arch. Biochem., **26**, 157 (1950).
3) 富山哲夫・米　康夫・津田　厚： 昭和 30 年 10 月，日本水産学会秋期大会に講演.

魚類の肉質変化に関する生化学的研究—X.

魚肉の AMPdeaminase について*

日 高 富 男・斎 藤 要

(1960 年 5 月 23 日受理)

STUDIES ON THE BIOCHEMICAL CHANGE IN FISH MUSCLE—X. ON THE AMP-DEAMINASE ACTIVITY OF SOME FRACTIONS PREPARED FROM FISH MUSCLE

Tomio HIDAKA and Kaname SAITŌ**

In this paper the authors dealt with the AMPdeaminase activity of some fractions extracted from carp and mackerel muscle.

The results obtained were as follows:

1) AMPdeaminase activity was similarly found in both actomyosin fraction and water extract II fraction which prepared by KALCKAR's method, while ATPase activity was not observed in the latter.

2) The enzymic characteristics of AMPdeaminase activity (such as opt. pH and opt. temp.) was found to be almost identical in both fractions. The optimum pH of the activity lay at pH 6.5, the optimum temperature being 38°C. The activity was not lost completely even by exposene to 50°C. for 30 minutes. At the concentration of 0.01~0.001 mol/l Ca^{++} and Mg^{++} showed no effect on the enzymic action, but Cu^{++} and Ag^{+} inhibited the activity even in very low concentration.

3) In case of the fish muscle kept at 25°C., it was observed that AMPdeaminase activity of water extract II fraction increased with time so far as the experiment was concerned (from 5 to 12 hours after its death).

On the basis of some experimental evidences, it was suggested that ammonia accumulation during autolysis was caused, at least in part, by deamination of AMP.

著者等は前報[1),2)]において魚肉の myosin 区–ATPase 作用と，その関連成分の鮮度低下に伴う変化について報告した。ところで脊椎動物筋肉の myosin 区には ATPase 作用とともに AMP よりアンモニヤを遊離する AMPdeaminase 作用のあることが G. SCHMIDT[3)] や H. M. KALCKAR[4)] および S.Z. HERMANN, G. JOSEPOVITS[5)] 等によつて明らかにされており，これら両酵素作用の反応関与物質である ATP とアンモニヤは魚肉の死後経過に伴い増減する成分で，前者は死後短時間内におこる自己消化過程において急減し，後者はかなり増加することが知られている[1),6)]。本報ではそのアンモニヤの由来を酵素学的に追求する一端として魚肉 AMPdeaminase の魚肉各抽出区分における分布と，AMPdeaminase 活性におよぼす魚肉鮮度の影響ならびにその二，三の酵素学的性質を ATPase のそれらと対比しながら検討した結果を報告する。

実 験 の 部

実験材料 実験に供した魚類は淡水魚のコイ *Cyprinus carpio* LINNÉ, 海水魚のマサバ *Scomber japonicus* (HOUTTUYN) である。コイ（平均体重 620g）は養殖の活魚を即殺して用い，マサバ（平均体重

* 本報告は昭和 32 年 4 月 日本水産学会年会において発表した。

** 鹿児島大学水産学部 (Fac. Fish., Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan).

520g）は水揚げ直後の鮮度良好なものを選び，ともに背側精肉のみを使用した。

酵素反応の基質として使用した ATP は和光純薬の Zellstofffabrik Waldhof 製のナトリウム塩で，AMP は L. Light & Co., Ltd. の筋肉製 5′AMP である。

酵素液の調製　供試魚の精肉を充分細切し，10 倍量の冷塩化カリ液（Bailey 液：0.5M KCl-0.03N $NaHCO_3$，pH 8.5）で抽出した原液と，それに 20 倍量の冷水を加えて精製した actomyosin 区分[1),7)]，また別に魚肉を冷水抽出した原液（水抽出 I 区分）およびそれを Kalckar 法[4)]に準拠して精製した水抽出 II 区分をそれぞれ酵素液として使用した。

AMPdeaminase 活性度測定法　反応系における基質濃度ならびに酵素濃度の影響について種々検討した結果，Schmidt 法に準じて 0.25%（7.2×10^{-3} M）の AMP 液 0.75 ml，0.1M 燐酸緩衝液（pH 6.5）2.5 ml，酵素液（40～60 mg% Prot-N）1.0 ml の混液を 38°C で 45 分間反応させた。ついで 4% 塩酸液 1.0 ml を添加して反応を停止せしめ，その反応液中に遊離したアンモニヤ量を Conway[8)] の微量拡散法により定量した。なお前記基準条件下における酵素液の蛋白態窒素 1 mg 当り生成アンモニヤ態窒素量（γ）で比活性度を表わした。

ATPase 活性度測定法　前報[9)]と同様に行う。

蛋白態窒素の定量法　試料の蛋白態窒素量はビューレット法により比色定量した。

実験結果および考察

1. 魚肉各抽出区分の AMPdeaminase と ATPase 作用

現在のところ筋肉中の AMPdeaminase 抽出法には一定の方法はなく，myosin 区ばかりでなく冷水抽出区分にもその活性が認められている。そこで即殺したコイ肉より前記 4 区分を調製し，各区分の蛋白収量，ATPase・AMPdeaminase 両酵素活性および超沈澱量[7)] 等を比較測定した数例の実験結果を要約すると，Table 1 のごとくである。この結果より，各抽出区分に AMPdeaminase が認められることは明らかで，水抽出区分に比し塩化カリ抽出区分の方が蛋白収量は多いが AMPdeaminase 比活性度には大差がない。ATPase 活性と超沈澱現象とは塩化カリ抽出原液と actomyosin 区分にだけ認められ，水抽出 I および II

Table 1. Enzymic activity and amount of some fractions extracted from carp muscle.

Fractions	Yield	AMPdeaminase activity	ATPase activity	Superprecipitated-Protein
	Prot.-N mg / Muscle 100g	NH_3-N γ / Prot.-N mg	Qp value	Ratio %*
Water ext. I **	1040	68	6	2.5
Water ext. II ***	350	98	0	0
KCl soln. ext.**	1400	71	240	33.4
Actomyosin****	540	118	570	98.7

* $\frac{\text{Amount of superprecipitated protein-N mg.}}{\text{Amount of original protein-N mg.}}\times100$

** This fraction was prepared by extraction from fish muscle with tenfold volume of the solvent.

*** Prepared by the method of Kalckar[4)].

**** Purified by the method of Bailey[1)].

The determination of AMPdeaminase action was carrid out on the reaction mixture (0.75 ml of 0.25% AMP sol., 2.5 ml of 0.1M phosphate buffer pH 6.5 and 1 ml of enzyme sol.) in which the reaction was stopped by addition of 1 ml of 4% HCl after 45 minutes incubation at 38°C.

This experimental condition was used throughout from Fig. 1 to Fig. 3, unless otherwise noted.

区分にはほとんど検出されなかつた。このように actomyosin 区分と水抽出 II 区分とを比較した場合，ATPase 作用と超沈澱現象における挙動が著しく異るにもかかわらず，両者の AMPdeaminase 作用はほぼ同程度の比活性度を示した。これに関して ENGELHARDT[10] らは myosin に AMPdeaminase 活性物質が結合すると述べているが，この結合物質が水抽出区分に現われる AMPdeaminase と本質的に同じであるか否かはなお検討の余地がある。しかし両区分の酵素学的性質に類似点があることは後述のごとくである。

2. 魚肉 AMPdeaminase の酵素学的性質

マサバ肉より抽出した actomyosin 区および水抽出 II 区分について常法の反応系で AMPdeaminase 作用の温度活性度曲線，熱抵抗曲線ならびに pH 活性度曲線を求めた結果は Fig. 1 のごとくである。すなわち両区分ともに至適温度は約 38°C で，酵素液を 50°C で 30 分間熱処理を施してもなおかなりの活性を示し，また至適 pH は約 6.5 であることが諒解された。これらの結果は SCHMIDT[3] の報告による家兎肉の AMPdeaminase の場合とほぼ同様で，種属的な差異はほとんど認められず，また actomyosin 区-AMPdeaminase は actomyosin 区-ATPase に比較すると耐熱性の酵素であることが明らかである。

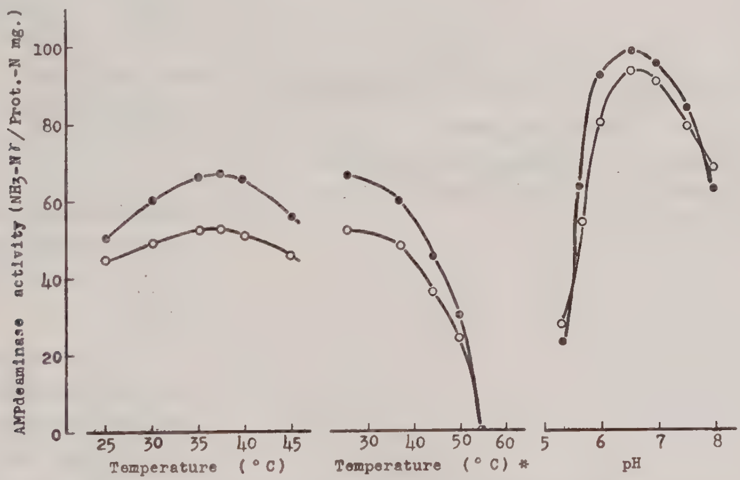


Fig. 1. Effect of temperature and pH on the AMPdeaminase activity of mackerel muscle extract.

——●—— Actomyosin fraction

——○—— Water ext. II fraction

* Heat-inactivation curve: Changes in AMPdeaminase activity of mackerel muscle extract exposed to various temperatures for 30 minutes.

つぎに actomyosin 区分の AMPdeaminase 作用に対する塩類の影響を同区分の ATPase 作用に対するとほぼ同様の条件で検討したが，Ca^{++}, Mg^{++} は 0.01～0.001 mol/l の濃度では顕著な影響は認められず，Cu^{++}, Ag^{+} の重金属イオンは ATPase 作用に対すると同様 AMPdeaminase 作用をも全く阻害した。この事実は actomyosin 区-ATPase が Ca^{++} によつて賦活され，Mg^{++} によつて一部阻害されたこと[9]とは若干趣を異にしている。しかし actomyosin 区分の AMPdeaminase 反応は同区分の ATPase の反応条件下でも起り得ることは確かである。

3. 酵素液および魚肉の放置による AMPdeaminase 活性の変化

コイ肉より抽出した各区分の酵素液を 5°C に放置して比活性度の変化を検討した結果は Fig. 2 のごとくである。この結果によると各区分の活性度は放置 10 日後においても認められ，特に抽出原液では放置初期5日頃までに一過性の増加がみられることは興味深い現象である。このような活性度増加現象は魚肉を放

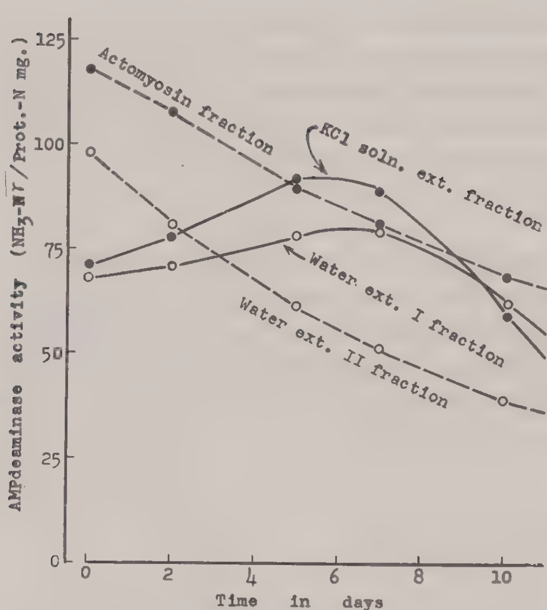


Fig. 2. Changes in AMPdeaminase activity of carp muscle extract during kept at 5°C. for various period.

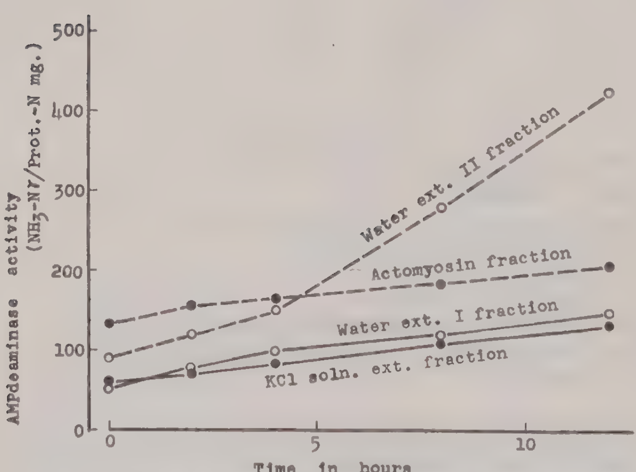


Fig. 3. Changes in AMPdeaminase activity of some fractions prepared from carp muscle which was stored at 25°C. and extracted at various time interval.

置した場合にも認められた。すなわちコイ肉を 25°C に放置し，所定時間後に各区分を抽出しそれぞれの比活性度を測定した結果は Fig. 3 に示すごとくである。各区分の比活性度は死直後では大差ないが，死後約 12 時間以内では放置時間の経過に伴い増加する傾向があつて，その傾向は水抽出 II 区分が特に顕著であり，12 時間後のものは死直後のものの数倍の比活性度を示し，他区分の比活性度より相当優位を占めている。蛋白収量より算出した全活性度においても類似の傾向がみられた。この結果から魚肉中の AMPdeaminase がかなり安定であることと，死後時間経過に伴い actomyosin 区分より水抽出 II 区分の方が比活性度が高くなり，更に死直後の肉よりも死後数時間を経た肉から抽出した区分の方が抽出蛋白中における該酵素蛋白の密度が高くなることが考えられる。

ところで魚体の疲労度によつて多少の時間的差はあるが，死後の筋肉では ATP の消失期前後にアンモニヤ量の増加がみられる。このアンモニヤの増加期が魚肉 AMPdeaminase の比活性度増加の過程内にみられる事実や，さきに著者等が in vitro の条件で ATP に魚肉 actomyosin 区を作用させた場合も無機燐およびアンモニヤの著しい増加と inosine の生成を認めた事実[11]より前述の生成アンモニヤには AMPdeaminase 作用に起因するものが含まれることは確かであろう。なおこのアンモニヤの生成については glutamine のごとき amide や adenosine, adenine 等の脱アミノも考慮しなければならないが，この点については別報に譲る。

要　　約

コイ，マサバを試料とし魚肉の水抽出原液，塩化カリ抽出原液，ならびにそれらの精製区分について

AMPdeaminase 活性を検討しつぎの結果をえた。

1) actomyosin 区分と水抽出 II 区分 (KALCKAR 法) は ATPase 作用および超沈澱現象において見掛上異る性質を示すが，両区分ともほぼ同様の AMPdeaminase 比活性度を示した。

2) actomyosin 区分および水抽出 II 区分の AMPdeaminase 作用の酵素学的性質はほとんど一致し，至適温度 38°C, 至適 pH 6.5 であつた。また actomyosin 区-AMPdeaminase と actomyosin 区-ATPase とでは熱抵抗性，酵素作用に対する塩類の影響等に若干の差異が認められた。

3) 死後 25°C に 5〜10 時間放置した魚肉から抽出した各区分の AMPdeaminase 比活性度は死直後のそれより高くなり，その傾向は水抽出 II 区分において顕著であつた。二，三の実験事実に基づき，自己消化過程内にみられるアンモニヤの増加現象には AMPdeaminase 作用も関与していることを認めた。

文　　献

1) 斎藤　要・日高富男： 鹿大水紀要，**4**, 90〜96 (1955).
2) 斎藤　要・日高富男： 本誌，**21**, 1025〜1028 (1956).
3) G. SCHMIDT: *Z. Physiol. Chem.*, **179**, 243 (1928).
4) H. M. KALCKAR: *J. Biol. Chem.*, **167**, 461 (1947).
5) S. Z. HERMANN and G. JOSEPOVITS: *Nature*, **164**, 845 (1949).
6) 天野慶之・尾藤方通・河端俊治： 本誌，**19**, 487〜498 (1953).
7) 斎藤　要・日高富男： 本誌，**24**, 196〜200 (1958).
8) 石坂音治： 微量ガス拡散分析提要，柴田，東京 (1951), pp. 3〜9.
9) 斎藤　要・日高富男： 本誌，**21**, 925〜928 (1955).
10) 赤堀四郎・水島三一郎： 蛋白質化学，V，共立，東京 (1957), p. 189.
11) 日高富男・斎藤　要： 鹿大水紀要，**8**, 75〜81 (1960).

イカ内臓の生化学的研究—V.

澱粉分解酵素およびエステル分解酵素について

高橋 喬

(1960 年 5 月 25 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE VISCERA OF CUTTLE-FISH, *OMMASTREPHES SLOANI PACIFICUS*—V. ON THE AMYLASE AND ESTERASE OF VISCERA

Takashi TAKAHASHI*

Concerning the enzymes of viscera of cuttle-fish, the previous papers of this series[1),2)] dealt with the proteolytic enzymes of digestive organs. In the present investigations the enzymatic hydrolysis of starch and buthyl-acetate by the extracts of the digestive organs were studied. The results obtained are summarized as follows:

1) The optimal pH for the starch hydrolysis by the extracts of such digestive organs as liver, blind sac and intestine, stomach, and pancreas was about 6.2 in common. The optimal temperature for the starch hydrolysis at the optimal pH by the extract of liver lay in the range of 40°～45°C; of blind and intestine, 45°～50°C; of stomach, 45°～50°C; of pancreas, 40°～45°C (Figs. 1 and 2).

2) The optimal pH for the hydrolysis of buthyl-acetate by the exract of each organ was about 7.4. The optmal temperature for the hydrolysis of buthyl-acetate at the optimal pH by the extracts of these organs was 30°C in common (Figs. 3 and 4).

スルメイカ内臓の生化学的研究の一つとして内臓酵素について検討したが，そのうち蛋白分解酵素に関する試験結果はすでに報告[1),2)]した通りである。スルメイカ内臓酵素に関して従来行なわれた研究としては，蛋白分解酵素に関するものを除けば，大島[3)]が内臓酵素として澱粉分解酵素の存在を報告したものがあるにすぎない。本実験ではスルメイカ内臓諸器官の澱粉分解酵素ならびにエステル分解酵素について，これ等酵素の作用条件を検討した。実験結果は以下に述べるごとくである。

実 験

実験材料 1958 年 5 月から 10 月までの間に三重県尾鷲市附近で漁獲されたスルメイカを用いた。

酵素液の調製 生鮮なスルメイカの胃，盲嚢および腸，膵臓，肝臓を取り出し，等重量の海砂とともによくすりつぶし後 2 倍重量の 87% グリセリンおよび 3 倍重量の 0.2M 食塩水を加えて均一にし，30°C で 3 時間抽出した後，3000 回転 10 分間遠心分離した上澄液を酵素原液とした。実際使用にあたつてはこれを 0.1M 食塩水で適宜稀釈して用いた。

activity の測定法ならびに表示法

澱粉分解酵素: 0.05M 緩衝液（下記）にとかした 1.2% 可溶性澱粉溶液 10 ml に酵素液 2 ml を加えて反応を行わせ，生成された還元糖の量を Fehling-Lehrman-Schoorl 法[4)]により測定することによつて activity を測定し，activity の表示は滴定に要した 0.1N チオ硫酸ソーダの ml 数をもつて relative activity として表わした。緩衝液としては pH 6.0 以上は燐酸塩緩衝液を，pH 6.0 以下は醋酸塩緩衝液を使用した。

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish., Pref. Univ., Mie).

エステル分解酵素: activity はエステルの加水分解により遊離した脂肪酸をアルカリで滴定することにより求めた。すなわち 10% ポリビニールアルコール溶液に，濃度が 0.1M になるように醋酸ブチルを加えて調製した基質乳液* 10 ml に，緩衝液 5 ml，酵素液 1 ml を加え，手で激しく振盪後，一定時間反応させこれに 10 ml のアセトン・エーテル (1: 1) 混液を加え反応を停止させ，約 0.25 ml の 10% アルコールフェノールフタレイン溶液を滴下し約 10 分間放置する。これを 0.1N アルコール性苛性加里で滴定する。対照は最初基質乳液を加えず主実験と同様処理し，アセトン・エーテル混液を添加後直ちに基質乳液を加えあとは主実験同様操作した。activity の表示は中和に要した 0.1N アルコール性苛性加里溶液の滴定数をもつて relative activity として表わした。緩衝液は pH 8.0 以上では 0.1M アンモニヤ塩緩衝液を，pH 8.0 以下では 0.066M 燐酸塩緩衝液を用いた。

結果および考察

1. スルメイカ内臓諸器官抽出液の澱粉分解。

activity におよぼす pH の影響: 内臓諸器官の抽出液を用いて澱粉分解能におよぼす pH の影響を検討したが，その結果は Fig. 1 に示す通りである。Fig. 1 は原酵素液を 5 倍に稀釈したものを酵素液として 30°C で 20 時間作用させた時の結果である。各試料とも activity の至適 pH はいずれも 6.2 附近にあるが，これら諸器官の酵素液によつて示される activity-pH 曲線は必ずしも同型を示さない。胃の酵素液によつて示される曲線の型と盲嚢および腸の酵素液によつて示される曲線の型とは全く類似しており，また肝臓と膵臓の場合は，これら両者の曲線の型は互に類似していた。1930 年大島[3]はスルメイカの全内臓抽出液を用いて澱粉の糖化と pH との関係を研究，その至適 pH は 6.5 であることを報告している。酵素液の調製法，作用時間等の実験条件が異るので厳密な意味での比較は困難であるが，著者の結果と大島の結果とを比較してみると，至適 pH においては大島の結果と近似した値が得られたが，activity-pH 曲線においては何れの器官の曲線も大島の結果とははなはだしく異つていた。また原報に接していないので詳細は不明であるが，大島の著書[6]によると Romijin の研究ではコウイカおよびヤリイカの胃，肝臓，膵臓の各澱粉分解酵素の activity の至適 pH は 6.7～7.0 であると記載されているが，これらに比べるとスルメイカ諸器官の澱粉分解の至適 pH はやや低いようにも考えられる。

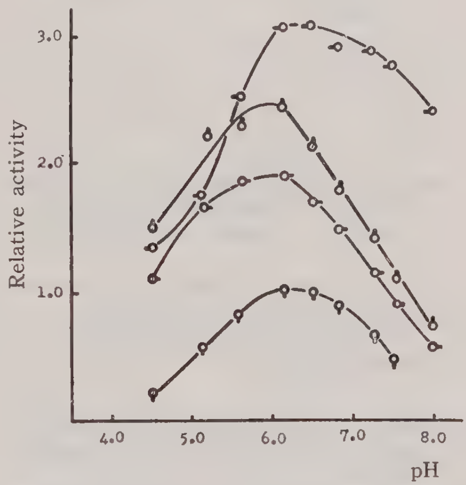


Fig. 1. The effect of pH on the enzymatic hydrolysis of starch by the extracts of digestive organs.
-o- · · liver, ♂ · · blind sac and intestine, o- · · stomach, ♀ · · pancreas.
Each organ was ground, extracted with 5 times weight of 35% glycerol aq. solution containing 0.12 M NaCl, and the extract was used as enzyme solution after diluting with 4 times vol. of 0.1M NaCl aq. solution. Two ml of the enzyme solution were mixed with 10 ml of 0.05 M phosphate or acetate buffer solution containing 1.2% soluble starch and incubated for 20 hrs. at 30°C. Reducing sugars produced were then measured according to the Fehling-Lehrman-Schoorl method[4]. The enzymatic activity of organ was expressed as the relative activity which is defined as number of ml of 0.1 N $Na_2S_2O_3$ which is consumed for titrating the reaction mixture.

activity におよぼす温度の影響: 各器官の抽出液を 5 倍に稀釈したものを酵素液として，pH 6.2 で 4 時間作用させた時の activity と温度との関係を検討した。結果は Fig. 2 のようである。activity の至適温度は胃，盲嚢および腸ではいずれも 45～50°C の間

---

* 基質乳液の調整は実験化学講座[5]に記載せる方法にしたがつた。

にあり，肝臓，膵臓ではいずれも 40〜45°C の間に見られた。これら諸器官抽出液の示す activity-温度曲線は，pH-activity 曲線の場合と同様に，胃と盲嚢および腸とが非常に似ており，肝臓と膵臓とは互に類似していることが観察された。

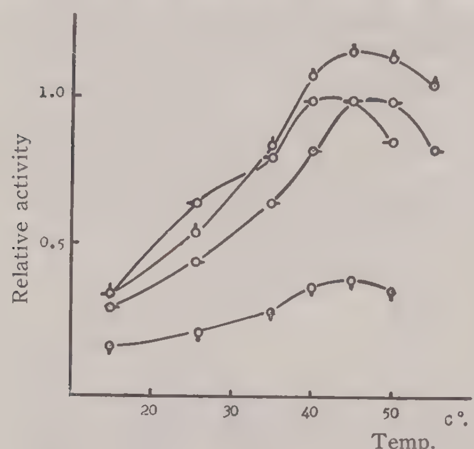


Fig. 2. The effect of temperature on the enzymatic hydrolysis of starch by the extracts of various organs. (at pH 6.2, 4 hrs.)
-o-··liver, ♁··blind sac and intestine, o-··stomach, ♀··pancreas.
The experimental procedure is the same as in Fig. 1.

Table 1. Enzymatic hydrolysis of various substrates by the extracts of digestive organs.

Organ \ Substrate	Relative activity		
	Buthyl-acetate	Tributyrin	Olive oil
Liver	1.54	2.78	0.02
Pancreas	1.30	2.70	0.20
Blind sac and Intestine	1.45	2.85	0.20
Stomach	0.62	1.25	0.20

The preparation of the extract of each organ is the same as in Fig. 1, and the extract is used as enzyme solution. One ml of the enzyme solution was added to the mixture of 5 ml of 0.066 M phosphate buffer solution (pH 7.1) and 10 ml of emulsion which was consisted of the substrate (described in the Table) and 10% polyvinyl alcohol aq. solution. The reaction mixture was incubated for 4 hrs. at 30°C, and was then titrated with 0.1 N alcoholic KOH solution. The enzymatic activity of organ was expressed as relative activity which is defined as number of ml. of 0.1 N alcoholic KOH which is consumed for titrating the reaction mixture.

2. スルメイカ内臓諸器官抽出液のエステル分解。

油脂およびエステルの分解： まず内臓諸器官抽出液の油脂ならびにエステルに対するおのおのの分解能を検討した。結果は Table 1 のようである。Table 1 は各種基質乳液 10 ml と pH 7.1 の緩衝液 5 ml との混液に原酵素液 1 ml を加え，30°C で 4 時間振盪反応させた時の結果である。乳液中の基質濃度はオリーブ油では 2.7%，トリブチリン，酢酸ブチルではいずれも 0.1M である。この結果から知られるように内臓諸器官の酵素はいずれも単純エステルよりもトリブチリンに強く作用するが，オリーブ油にはほとんど作用しない。作用基質が少ないのではつきりしたことはいえないが，これら内臓諸器官はリパーゼよりもエステラーゼを多く含むように考えられる。したがつて以下の実験には酢酸ブチルを基質として使用することにした。また振盪の有無は酢酸ブチルの分解にほとんど影響を与えなかつたので振盪せずに反応を行うことにした。

エステル分解能におよぼす pH の影響： 各器官の原酵素液を 4 倍に稀釈したものを酵素液として，酢酸ブチルの分解能に対する pH の影響を検討した。Fig. 3 は 30°C で 20 時間作用させた時の結果である。酢酸ブチル分解能は器官によつて強弱の差が見られるが，pH による影響は各器官の酵素とも全く同一で，activity の至適 pH はいずれも 7.4 附近にみられ，pH 7.8 附近よりアルカリ側では activity は急激に低下する。

エステル分解能におよぼす温度の影響： 内臓各器官酵素液の酢酸ブチル分解能におよぼす温度の影響を検討した結果は Fig. 4 に示すようである。Fig. 4 は原酵素液を 4 倍に稀釈したものを酵素液として，pH 7.5 で 20 時間作用させた時の結果である。酢酸ブチル分解能におよぼす温度の影響はこれら各器官の酵素のいずれに対しても全く同じであつた。activity の至適温度は 30°C 附近にあつてこれより高温においては温度の上昇とともに activity は急減するが，30°C より低温では activity の低下はあまりみられず，10°C まではほとんど同じ位の activity を示した。そして 0°C においてもなほかなり高い activity を示すことが知られた。

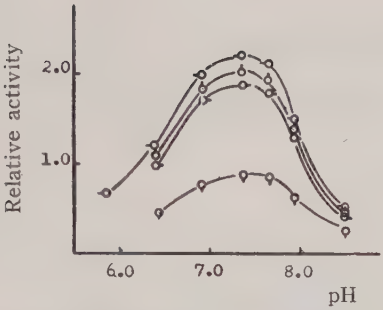


Fig. 3. The effect of pH on the enzymatic hydrolysis of buthyl-acetate by the extracts of digestive organs.
-o-··liver, ♁··blind sac and intestine, o-··stomach, ♀··pancreas.
The preparation of the extract of each organ is the same as in Fig. 1, and the extract is used as enzyme solution after diluting with 3 times vol. of 0.1M NaCl aq. solution. One m*l* of enzyme solution was added to the mixture of 5 m*l* of 0.1 M ammonum or 0.066 M phosphate buffer solution and 10 m*l* of emulsion which was consisted of 1.35 m*l* of buthyl-acetate and 100 m*l* of 10% polyvinyl alcohol aq. solution. The reaction mixture was incubated for 20 hrs. at 30°C, and was then titrated with 0.1 N alcoholic KOH solution. The expression of the enzymatic activity is the same as in Table 1.

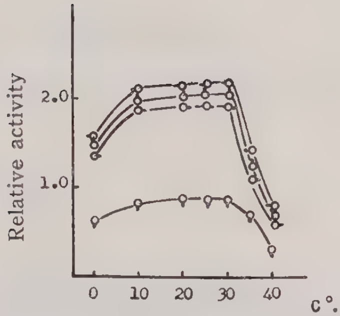


Fig. 4. The effect of temperature on the enzymatic hydrolysis of buthyl-acetate by the extracts of various organs. (at pH 7.5, 20 hrs.)
-o-··liver, ♁··blind sac and intestine, o-··stomach, ♀··pancreas.
The experimental procedure is the same as in Fig. 3.

要　　約

スルメイカ内臓諸器官抽出液の澱粉ならびに醋酸ブチル分解の作用条件について検討しつぎの結果を得た。

1) 胃，盲嚢および腸，肝臓，膵臓に存在する澱粉分解酵素の activity-pH 曲線は，胃と盲嚢および腸とが同一の型を示し，また肝臓と膵臓とが互に類似した型を示した。だが，これら器官中に存在する澱粉分解酵素の至適作用 pH はいずれも同じで 6.2 附近にあつた。またこれ等酵素の至適作用温度は胃，盲嚢および腸では 45～50°C にあり，肝臓，膵臓では 40～45°C にあつた。

2) これら内臓諸器官抽出液の醋酸ブチル分解能におよぼす pH の影響ならびに温度の影響はいずれの抽出液に対しても同一であつて，至適作用 pH は 7.4 附近にあり，至適作用温度は 30°C 附近にみられた。

終りにあたり終始御懇切なる御指導を賜つた本学立野新光教授に深謝の意を表する次第です。

文　　献

1) 高橋　喬： 本誌，**26**，500 (1960).
2) 高橋　喬： 本誌，**26**，504 (1960).
3) 大島幸吉・黒館健吉・板谷真一： 札農林，第 99 号，40，(1930).
4) 化学実験学，第 2 部，天然物取扱法Ⅲ，河出書房，東京，(1944)，pp. 175.
5) 日本化学会編： 実験化学講座，**24**，Ⅱ，丸善，東京，(1958)，pp. 239.
6) 大島幸吉： 水産動物酵素化学，pp. 30.
(高橋偵造・田所哲太郎監輯： 酵素化学工業全集，**17**，厚生閣，東京，(1940)).

緑藻類の化学的研究—I.

「アオノリ」,「アナアオサ」の季節に関する生化学的研究

三田喜代

(1960年5月30日受理)

CHEMICAL STUDIES ON THE GREEN SEAWEED—I. SEASONAL VARIATIONS REFLECTED ON BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *ENTEROMORPHA COMPRESSA* AND *ULVA PERTUSA*

Kiyo MITA*

Besides the routine components of frond, vitamin B_1 contents of *Enteromorpha compressa* and *Ulva pertusa* were measured especially in the point of view of seasonal variation. The specimens employed were collected from the respective flora growing on a jetty of Ujina harbor in Hiroshima Bay on the 21st every month during the period of 6 to 7 months. They were submitted to analysis as soon as possible after their collection.

As seen from the tables presented elsewhere, fronds of said species of green algae both contain fairly large amounts of crude protein, crude ash and total vitamin B_1 but only very small quantities of fatty matters. While the contents of these substances as estimated by chemical analysis show more or less remarkable variations according to the time of the year, those of *Enteromorpha compressa* appear to be particularly sensible to a change of seasons. Said analytical peculiality of this alga may likely be the counterpart of its physiological sensibility to the environmental conditions according to which the metabolism of *Enteromorpha compressa* is very often possible to give rise to the known morphological varieties.

Considered in the aspect of vitamin B_1 content, the results telling that the usually inferior ester form becomes predominant over the free B_1 in March and May and even to twice in amount in the latter month seem to be physiologically suggestive. As to the best season for the collection of these algae, it may be said that December and May are recommendable for *Enteromorpha compressa* and *Ulva pertusa*, respectively.

緑藻類の化学に関しては，三宅[1)]，林[2)]，柳川[3)]，PERCIVAL[4-6)]等の粘質物に関する報告，高木[7)]の蛋白質・アミノ酸に関する報告，小幡[8)]の揮発性成分に関する報告，土居[9)]のビタミンCに関する報告等少数の発表があるにすぎない。著者[10)]は広島湾宇品港岸の緑藻「アオノリ」,「アナアオサ」の粘質物は「フノリ」の粘質物[11)]と同様血液凝固阻止作用のあることを確認したので，緑藻類の利用に深い関心を持ち，粘質物の化学構造につき考察を加えているが，研究の第一段階として，本研究では主として季節による成分変化について研究を行つたので，その結果を報告する。

実験方法

試料

アオノリ (*Enteromorpha compressa*)

アナアオサ (*Ulva portusa*)

「アオノリ」は1953年12月21日から毎月21日に,「アナアオサ」は12月には発生していないので

* 広島女子短期大学 (Hiroshima Women's Junior College).

1954 年 1 月 21 日から毎月 21 日に広島湾宇品港岸の同一場所で採取したものを用いた。いずれも手早く洗滌して，塩分，土砂等を除去し，乾燥器で乾燥後，粉末にして実験に供した。

各試料について一般成分，ビタミン B_1[12]（チオクロム法）を定量した。この期間中の月平均水温は 12 月 13°C，1 月 11°C，2 月 10°C，3 月 11°C，4 月 14°C，5 月 17°C，6 月 20°C であつた。

実験結果および考察

各試料につき 12 月から 6 月まで 7 ヶ月間にわたつて水分，粗蛋白質，粗脂肪，粗繊維，粗灰分，炭水化物および総ビタミン B_1 を測定した結果は Table 1～4 のようである。

Table 1. Seasonal variation in chemical composition of *Enteromorpha compressa.*

Date	Moisture (%)	On moisture-free basis (%)				
		Crude protein	Crude fat	Crude cellulose	Crude ash	Carbohydrate
12-21	15.1	25.21	1.62	3.48	13.98	55.71
1-21	20.1	17.13	2.31	3.45	16.02	61.09
2-21	22.1	15.03	0.85	3.09	19.04	61.99
3-21	16.8	17.0	0.94	2.90	19.07	60.09
4-21	17.5	16.0	1.56	3.36	17.65	61.43
5-21	18.6	14.11	1.81	2.62	13.51	67.95
6-21	16.9	12.17	1.87	2.60	11.42	71.94

Table 2. Seasonal variation in chemical composition of *Ulva pertusa.*

Date	Moisture (%)	On moisture-free basis (%)				
		Crude protein	Crude fat	Crude cellulose	Crude ash	Carbohydrate
1-21	19.8	10.13	2.25	2.17	18.98	66.47
2-21	17.7	12.95	1.81	2.76	19.61	62.87
3-21	14.1	12.64	1.69	2.71	19.88	63.08
4-21	15.7	13.89	1.68	2.36	21.99	60.08
5-21	14.7	17.26	1.56	3.00	25.13	53.05
6-21	17.1	12.37	1.77	2.36	18.45	65.05

Table 3. Seasonal variation in vitamine B_1 content of *Enteromorpha compressa.*

Date	Total-B_1 (γ%)	Free-B_1 (γ%)	Ester-B_1 (γ%)
12-21	889.2	532.2	357.0
1-21	766.6	481.1	285.5
2-21	261.0	197.6	63.4
3-21	339.8	124.2	215.6
4-21	177.1	108.9	68.2
5-21	403.6	120.6	283.0
6-21	307.8	99.2	208.6

Table 4. Seasonal variation in vitamine B_1 content of *Ulva pertusa.*

Date	Total-B_1 (γ%)	Free-B_1 (γ%)	Ester-B_1 (γ%)
1-21	430.0	295.8	134.2
2-21	450.3	316.8	133.5
3-21	513.0	238.7	274.3
4-21	556.6	386.1	170.5
5-21	722.2	237.6	484.6
6-21	307.8	178.2	129.6

Table 1～4 から知られるように同一場所に生育した「アオノリ」，「アナアオサ」では粗蛋白質，粗灰分，

総 B_1 はかなり豊富であるが，粗脂肪含量は極めて少ない。しかして両者の化学成分は季節により変化するが，変化の傾向は互に相違している。

「アオノリ」については水分は12月最小値を示して急に増加し，3月急に減少し，再度少しづつ増加して6月にまた減少する。粗蛋白質は 12 月最高値を示し以後減少するが3月再度増加以後次第に減少する。粗脂肪は含量少なくその変動も余り著しくないが，それでも1月最高値を示し，以後減少3月から再度増加して行く。粗繊維は約 3% 前後で季節による変化は殆んど認められない。粗灰分は12月は低く次第に増加して3月に最大となり再び減少する。総 B_1 は豊富で 12 月最高値を示し次第に減少し，3月増加して4月減少，5月に増加，6月減少と変動が著しい。殊に3月，5月，6月は遊離型 B_1 よりむしろエステル型 B_1 の値が高く，殊に 5，6 月はエステル型 B_1 が遊離型 B_1 の2倍の値を示している。これは藻体内で B_1 の半分がエステル型として Cocarboxylase 作用を営むとの示唆と考えられる。

「アナアオサ」については一般成分，総 B_1 は1月から次第に増加して5月に粗蛋白質，粗灰分，総 B_1 は最大値に達し，それから急に減少する。粗脂肪は約 2% 前後，粗繊維は約 3% 前後で季節による成分変化は殆んど認められない。水分については3月，5月に低い値を示している。B_1 含量は豊富で遊離型 B_1 として大部分存在するが3月，5月はむしろエステル型 B_1 として殊に5月にはエステル型 B_1 が遊離型 B_1 の2倍の値を示していることは「アオノリ」と同様である。栄養的観点から考えると「アオノリ」は12月，「アナアオサ」は5月採取が好都合だといえる。

「アオノリ」は「アナアオサ」に比べて各季節による一般成分，総 B_1 の変化の変動が著しい。このことは「アオノリ」がその環境によつて甚だしく体形の変化に富むために起る新陳代謝によるものと考えられる。実際「アオノリ」の発生状態，形状を観察していると3月，5月，6月の「アオノリ」はそれぞれ一見して異なつた形態を示すが「アナアオサ」においてはいつも変らぬ形態を示しながら発生していることが観察される。

なお B_1 の半分以上がエステル型となつて触媒の役割をつとめる 3，5，6 月，「アナアオサ」の場合は，3，5 月は水分含量が低いことに関連して，緑藻体内における生理変化に関連する興味深い問題である。

終りに終始御懇篤な御指導を賜わつた故増本文吉博士に厚く感謝の意を表すとともに海藻採取ならびに実験に協力された本校永井君子副手に深謝する。

なお本研究の一部は文部省科学研究費によつて行つたものである。

文　献

1) 三宅： 熱帯農会 10 巻，第3号 (1938).
2) 林・永田・山田： 岐阜大農報 **5**，90 (1955).
3) 柳川・中西： 同志社工誌 **2**，65 (1951).
4) I. M. Mackie and E. Percival: *J. Chem. Soc.*, 1151～1156 (1959).
5) J. J. O' Donnell and E. Percival: *J. Chem. Soc.*, 1739～1743 (1959).
6) J. J. O' Donnell and E. Percival: *J. Chem. Soc.*, 2168～2178 (1959).
7) 高木： 北大水産研 **I**，77 (1951).
8) 小幡・五十嵐・俣野： 本誌，**17**，60 (1951).
9) 土屋： Tohoku J. Agr. Research **I**, 97 (1950).
10) 三田： 未発表.
11) 三田： 薬誌，**73**，198 (1953).
12) 東京大学農学部農芸化学教室： 実験農芸化学上巻 p. 106 (昭和 33 年).

緑藻類の化学的研究—II.

「アオノリ」,「アナアオサ」の貯蔵に関する生化学的研究

三田喜代

(1960 年 5 月 30 日受理)

CHEMICAL STUDIES ON THE GREEN SEAWEED—II. PRESERVABILITIES IN BIOCHEMICAL ASPECT OF *ENTEROMORPHA COMPRESSA* AND *ULVA PERTUSA*

Kiyo Mita*

What means is adopted is a grave subject in the storage of see weeds collected for food, since the period during which they are possible to be collected under the most advantageous condition is limited to a certain short time of the year.

The author examined the results of four readily practicable means by which specimens of *Enteromorpha compressa* and *Ulva pertusa* were stored in stoppered bottles at room temperature as (1) dried and powdered, (2) dried in their original forms, (3) the same as (2) but in a vacuum of 20 mmHg and (4) sealed in cellophane bags and sterilized. Preservative effects of these four methods were compared with one another in reference to the results of the general analysis, vitamin B_1 contents and organoleptic responses.

According to the results obtained, the method (1) is not recommendable because the total protein and total vitamine B_1 diminished rather promptly. It was moreover attended by a loss of flavor and decolorization of specimens as a result of oxidation. The effect of the method (2) was not far from that of the method (1). The storing methods (3) and (4) on the other hand proved to be far superior to the former two and allowed the specimens of algae to keep their chemical constituents thus far estimated almost perfectly unchanged. The specimens were also protected from loss of flavor as well as from undergoing decolorization.

As to the change in chemical composition which occurs in the specimens of algae under storage, it was found with *Enteromorpha compressa* as well as with *Ulva pertusa* that their contents of total protein and vitamin B_1 tended to decrease somewhat rapidly in the early five months of storage period, while any remarkable changes were scarcely observed in the contents of crude fat, possibly owing to their small original values in the both algae. Organoleptic judgment told, however, that the fatty matters contained were not completely protected from undergoing some slow changes.

The fact that *Enteromorpha compressa* is inferior in preservability to *Ulva pertusa* as seen from the analytical results presented may also be numerated into the indications of physiological dissimilarity of these fronds.

多くの食品の，貯蔵法[1]の違いによる成分変化についての研究は多数あるが，緑藻類の貯蔵に関する化学的研究は見当らない。本報では緑藻類の粘質物をできるだけ新しい状態のもとで抽出するため，さきに報告した通り「アオノリ」,「アナアオサ」は，季節による成分変化の著しいことと，採集時期に限定があるため保存を要することとから，成分が時間経過に伴つて低下することを防ぎ，かつは研究上簡単に取扱へるということをも考慮して4種の貯蔵法をえらび比較検討した。すなわち 1. 乾燥粉砕法，2. 乾燥法，3. 真空法，4. セロハン包法により採取直後，2, 4, 6, 12 カ月後の粗蛋白質，粗脂肪，総ビタミン B_1 の変化を前報同

* 広島女子短期大学 (Hiroshima Women's Junior College).

Table 1. Changes in chemical composition of *Enteromorpha compressa* stored at room temperature by various storing methods.

Storage time (months) / Storing methods	Crude protein (%)					Crude fat (%)					Vitamine B_1 (γ%)					Crude ash (%)				
	0	2	4	6	12	0	2	4	6	12	0	2	4	6	12	0	2	4	6	12
Drying and crushing	17.1	15.4	14.6	13.5	11.3	2.3	2.1	1.8	1.7	1.3	766.6	730.4	698.6	673.1	596.4	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
Drying		16.1	15.4	14.8	13.1		2.2	1.9	1.7	1.4		740.0	715.9	692.7	636.5		16.0	16.0	16.0	16.0
Sealing in cellophane		16.5	16.0	15.6	14.4		2.3	2.2	2.0	1.7		753.1	744.8	735.8	716.0		16.0	16.0	16.0	16.0
Stored at vacuum (20 mm)		16.5	16.1	15.8	14.6		2.3	2.2	2.1	1.7		753.3	746.3	738.9	716.6		16.0	16.0	16.0	16.0

Table 2. Changes in chemical composition of *Ulva Pertusa* stored at room temperature by various storing methods.

Storage time (months) / Storing methods	Crude protein (%)					Crude fat (%)					Vitamine B_1 (γ%)					Crude ash (%)				
	0	2	4	6	12	0	2	4	6	12	0	2	4	6	12	0	2	4	6	12
Drying and crushing	17.3	16.3	15.7	15.2	13.7	1.6	1.5	1.4	1.2	0.9	722.2	706.4	693.8	684.1	662.7	25.1	25.1	25.1	25.1	25.2
Drying		16.6	16.3	16.1	15.3		1.5	1.5	1.2	0.8		706.0	695.5	688.4	667.2		25.1	25.1	25.1	25.1
Sealing in cellophane		16.8	16.6	16.6	16.0		1.6	1.6	1.5	1.3		716.3	710.4	708.2	700.8		25.1	25.1	25.1	25.1
Stored at vacuum (20 mm)		16.9	16.6	16.6	16.2		1.6	1.6	1.5	1.3		716.5	711.1	710.0	701.1		25.1	25.1	25.1	25.1

様の方法で測定し，併せて五感判定を行なつた結果を報告する。

実　験　方　法

試　料

前報の試料である1954年1月21日広島湾で採取した「アオノリ」，5月 21 日同じ場所で採取した「アナアオサ」を用いた。

貯蔵法としてはつぎの4通りの方法を用いた。いずれも水洗して海水を除去した後

1. 乾燥粉砕して褐色壜に密閉して室温下に貯蔵する方法。
2. 乾燥し粉砕しないで原形のままで褐色壜に密閉して室温下に貯蔵する方法。
3. 褐色空デシケーター内で 20 mm 真空下で貯蔵する方法。
4. セロハン紙に包み，100～108°C の加圧滅菌器で1時間滅菌した後加圧釜から取り出した包みを，そのまま褐色壜に入れて貯蔵する方法の4通りである。

4種の貯蔵中の粗蛋白質，粗脂肪，総ビタミン B_1 を採取直後，2，4，6，12 カ月後に前報同様の方法で定量した。

実験結果および考察

各貯蔵法についての 12 カ月間の成分変化の結果は Table 1，2 のようである。

Table 1～2 から知れるように貯蔵中の成分変化は両者とも粗蛋白質，総ビタミン B_1 ははじめの5カ月間に大きく変化する傾向があるが，粗脂肪については含量が少ない関係か貯蔵のごく初期には目立つた変化は認められなく緩慢な変化がおこなわれているようである。乾燥粉砕法は粗蛋白質，総 B_1 の変化が著しく，粗脂肪も僅かに変化し，脱香気，色素の酸化褪色が行なわれて貯蔵法としての効果はもつともよくなかつた。粉砕しないでそのままの形で乾燥する方法は粉砕法よりは多少変化の程度が少なく，香気，色素が幾分残つているが先の乾燥粉砕法に比べて余り大した差はない。

真空法，セロハン包法は成分の変化も非常に少く，脱香気，色素の酸化褪色も僅かで貯蔵法としての効果はすぐれているとおもう。特にセロハン包法は外観上真空法よりよい。ということは真空法では藻体内の水分が必要以上に減少するのに対してセロハン法では一定の水分を保ち，かつ滅菌により微生物の活動が抑制されるためであろう。

「アオノリ」は「アナアオサ」に比べて貯蔵中の変化が大きい。このことは両者の藻体内における生理機構の違いによるものではなかろうかと推量させる。

終りに終始御懇篤な御指導を賜わつた故増本文吉博士に厚く感謝の意を表するとともに海藻採取ならびに実験に協力された本校永井君子副手に深謝する。

なお本研究の一部は文部省科学研究費によつて行つたものである。

文　　献

1) 三田：　広島女子短大紀要 **1**，7 (1950).

水産動物中のビタミンDに関する研究—I.

クロマトグラフによるビタミンD定量法の改良

山川健重・岩崎喜久子

(1960年6月1日受理)

STUDIES ON VITAMIN D IN AQUATIC ANIMALS—I. IMPROVEMENT OF THE ASSAY METHOD BY USING CHROMATOGRAPHY

Takeshige YAMAKAWA and Kikuko IWASAKI*

In a method for determining vitamin D in animal oils, proposed by Ewing et al[1]. and modified by Numata[2),3)], the oil is saponified, sterols removed by precipitation in cooled methanol and vitamin A removed by chromatography with Superfiltrol (SPF). Vitamin D is then determined spectrophotometrically after adding $SbCl_3$ reagent. The absorption values at 500 mμ are compared to samples of vitamin D put thorough same process.

In the present work, adsorption on weakened alumina (10% water in alumina) was introduced as a further purification process after chromatography and before addition of $SbCl_3$. The absorption values of unknown samples and reference vitamin D samles were determined at 490mμ, 500mμ and 508mμ and the following formula was obtained which eliminates the need for vitamin D reference material.

$$E_{500m\mu}\ (\text{corrected}) = E_{500m\mu}\ (\text{observed 60 seconds after addition of } SbCl_3) \times f$$

$$f = 7 - 3.11 \times \frac{E_{490m\mu}\ (\text{observed})}{E_{500m\mu}\ (\text{observed})} - 3.89 \times \frac{E_{508m\mu}\ (\text{observed})}{E_{500m\mu}\ (\text{observed})}$$

The method under report was found applicable to samples containing vitamin D at a level as low as 1/550 of the vitamin A content (Table 4).

緒　　言

ビタミンDの理化学的定量法については多くの研究があるが，特に注目すべきは EWING ら[1)] と沼田[2),3)]の研究である。EWING らは Superfiltrol (以下 SPF とする) とアルミナの二段クロマトグラフを行い，試料中のDとAの単位の比が約 1: 20 より小さい場合に限り定量し得るとした。沼田はこの方法を簡易化し SPF のみを用いてDを定量する方法を発表した。著者らは沼田法を用いて濃縮ビタミン油中のDを測定したところ，甚だしく過大な結果がえられることを見出した。これは試料中の非D呈色物**を SPF によって完全に分離できないためであつて，このような非D呈色物の多い試料中のDの真値を得るためには操作が多少繁雑でも EWING 法によらざるをえまいと考えた。しかし，われわれの入手できるアルミナをそのまま使用したのではDの分解をおこし，定量法として採用することができない。そこで著者らはD含量が少く，非D呈色物の多い試料中のDを定量するさい，従来法の示す欠点を改良するため SPF および弱活性化アルミナクロマトグラフ法を組合せた方法について吟味した結果，相当信頼し得る結果をえられるようになつ

* 東海区水産研究所 (Tōkai Reg. Fish. Res. Lab., Chuō-ku, Tokyo, Japan).

** $SbCl_3$ 試薬で呈色しD定量を妨害する不純物

東海区水産研究所業績 B 第 331 号

たのでここに報告する。著者らの改良法によると A：D の単位の比が 550：1 のものでも定量が可能であり，従来の方法よりすぐれていると思われる。

試　　料

鯨，ヨシキリザメ，大ザメ，カツオ，スケソウの各種肝油を分子蒸溜後メタノール性ソーダで鹸化し，ベンゼンにより不鹸化物を抽出し，不鹸化物よりステロールおよび尿素附加物を除いたものを用いた。また，カツオの幽門垂および腸より採取した油の不鹸化物を試料とした。

試　　薬

1) SPF

SPF は Grade 1 Adsorbent (Reference XV-127), Filtorol Corporation, 3250 East Washington Blvd. Los Angeles 23, California 製品。

これをうすくひろげ 130°C で 1～2 時間乾燥後室温にもどした。この乾燥品を秤量し，これに 10% の水を加えてよくかきまわし均一状態にして使用した。

2) セライト

和光純薬製セライト 545 を用いた。

3) ヘキサン

和光純薬製品を用い 1 回蒸溜して主溜部（63～68°C）を用いた。

4) エーテル

市販一級エーテルを用い結晶硫酸第一鉄と濃硫酸で過酸化物を除去したのち，1 回蒸溜し，主溜部を芒硝で脱水したものを用いた。

5) アルミナ

メルク製吸着用アルミナを水で弱活性化して用いた。

6) 石油エーテル

日本石油製一級品を蒸溜し主溜部（40～60°C）を用いた。

7) クロロホルム

市販一級品を常法により精製して用いるが，精製条件が適当でないと，かえつてホスゲンを発生させるので，特級品をそのまま用いた。

8) 三塩化アンチモン

ヨツハタ化学製最純品をそのまま用いた。

9) 塩化アセチル

関東化学製特級品をそのまま用いた。

10) ビタミン D_2 結晶

市販品をそのまま用いた。$E^{1\%}_{1cm}$ 265mμ (EtOH) 466

実験方法および結果

1. 弱活性化 SPF による D の展開

約 50γ の D_2 に対して弱活性化 SPF は 10g を用いるが，そのまま展開を行うと長時間を要するので沪過助剤としてセライト 2g を均一に混ぜて用いた。

この SPF・セライト吸着層 (22×70mm) に D_2 を吸着させたのち，ヘキサン・エーテル (5：1) で展開し，elute を 10cc づつに分けて蒸発ののち $SbCl_3$ 試薬反応をしらべた結果 D は最初の 30cc 中にはあらわれず，つぎの 30cc の中にほとんど 100% あらわれることを確めた。

2. 弱活性化 SPF 匯による試料の展

試料の採取法としては，従来法では試料として肝油を 0.2～0.6g 採取している。これはコレステロールを除いた不鹸化物として，せいぜい数 10mg にしか当らない。この程度の量ではD含量が少い場合，$SbCl_3$ 試薬による発色が弱く，発色スペクトルが果してDであるか否かも明らかにすることができない。そこで著者らは濃縮ビタミン油を試料とした場合，これはすでに不鹸化物であるが，約 200mg 採取することにした。

この試料に D_2 50γ を添加し弱活性化 SPF 5g を用い，クロマトを行い，D区画（ヘキサンエーテルで展開，最初の 20cc をすて，つぎの 30cc をとる）をとり，その発色スペクトルを見た。しかし，それでも添加した D の発色は非 D 呈色物に妨害され，500 mμ に極大を示さなかつた (Fig. 1 参照)。

しかも，この D 区画の $SbCl_3$ 試薬による呈色は不安定で，その発色値は時間の経過とともに増大する。特にうなぎ肉中より得られた不鹸化物においてはこの傾向が著しく発色後 120 秒後には 15 秒後の発色値の 7 倍にも達した (Fig. 2)。

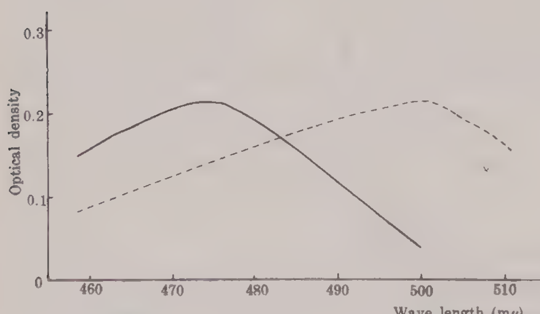


Fig. 1. 濃縮ビタミン油 SPF 通過物 $SbCl_3$ 試薬呈色液の吸収曲線
(···· は D_2 の吸収曲線)
Absorption curves of coloured solution of D_2 and fraction of unsaponifiable matter by elution from SPF (····, D_2).

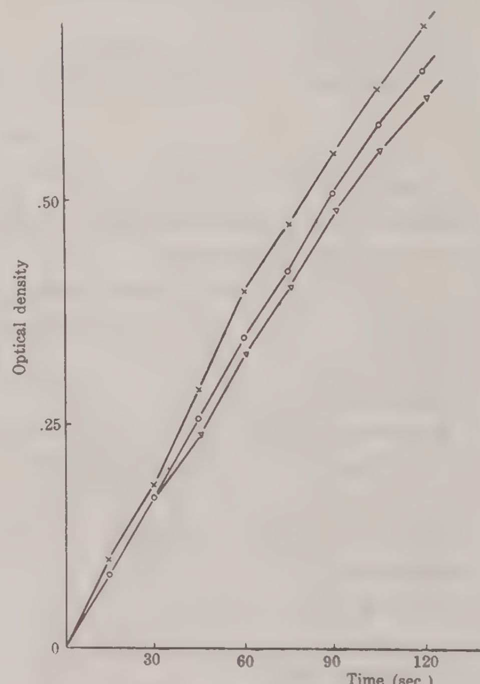


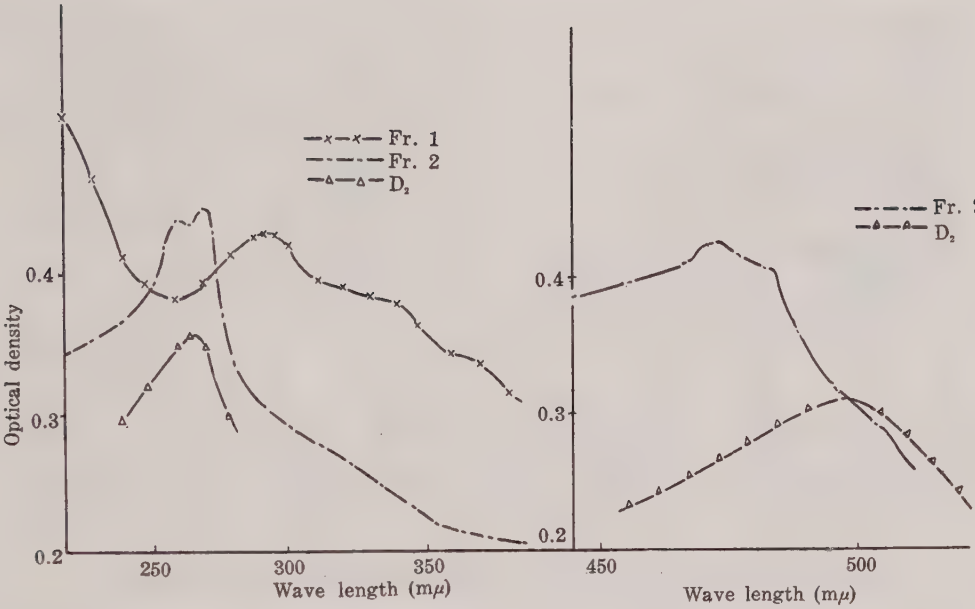
Fig. 2. ウナギ肉不鹸化物 SPF 通過物 $SbCl_3$ 試薬による呈色
Progress curve produced by $SbCl_3$ reagent with unsaponifiable matter of eel flesh after treatment of SPF.
—×—×— 487 mμ
—○—○— 500 mμ
—△—△— 507 mμ

3. 弱活性展アルミナによる D の展開

D約 50γ を用い各種活性度のアルミナを吸着剤とし 2～6% エーテル・石油エーテル混液およびエーテルを展開剤としてDの回収率を調べた。その結果，Table 1 に見るように 8%以上弱活性化したアルミナを吸着剤とした場合，Dの分解をおこすことなく，よい収量で回収することができた。特に 10% 弱活性化したアルミナにおいてはDの吸着帯の巾が短かく，Dと非D呈色物の分離能が良好であることが予想されたので，今後の実験ではすべてこの 10% 弱活性化アルミナを吸着剤として使用することにした。

Table 1. 各種活性度のアルミナによる D_2 の回収率
Relation of amount of water in weakened alumina with recovery of D_2.

アルミナの活性度 Water added to alumina	D_2 の回収率 (%) Yield of vitamin D_2	
強活性 Not added	51.0	
3% 弱活性	72.3	
8% 〃	98.8	
10% 〃	108.0	Good result in separation 分離能良好
12% 〃	104.0	



アルミナクロマト区分の紫外吸収曲線

Absorption curves in ultraviolet region.

アルミナクロマト第2区分の $SbCl_3$ 試薬呈色液の吸収曲線

Absorption curves of coloured solution with $SbCl_3$ of Fr. 2.

Fig. 3. 濃縮ビタミン油 SPF 通過物のアルミナクロマト

Absorption curves of D_2 and fractions of unsaponifiable matter after treatment of SPF by elution from water-weakened alumina.

4. 弱活性化 SPF および弱活性化アルミナによる試料の展開

スケソウ肝油濃縮物を用いてすでに述べたような条件で弱活性化 SPF によるクロマトを行つたのち，さらに Table 2 に示すような条件でアルミナクロマトを行つた。各 Fr. の紫外および $SbCl_3$ 試薬呈色液のスペクトルを見ると Fig. 3 のようになる。第2区分はその紫外スペクトルの形から見てルミステロールに酷似しているが，Dを検出することができなかつたので，さらにアルミナクロマトを細かに行うことにした。

Table 2. 弱活性化アルミナによる濃縮ビタミン油 (SPF 通過物) のクロマトグラフ (その1)

Alumina chromatography of concentrated vitamin oil after treatment with Superfiltrol (SPF)—(1)

Fr.* No.	展開溶剤 Solvent for elution	
	種類 Kinds of solvent	容量 (cc) Volume of filtrates
1	2% Ether/Light petroleum	30
2	6% Ether/Light petroleum	20

* Fraction Nos. 1 and 2 refer to those in Fig. 3.

5. ペーパークロマトグラフによる D の検出

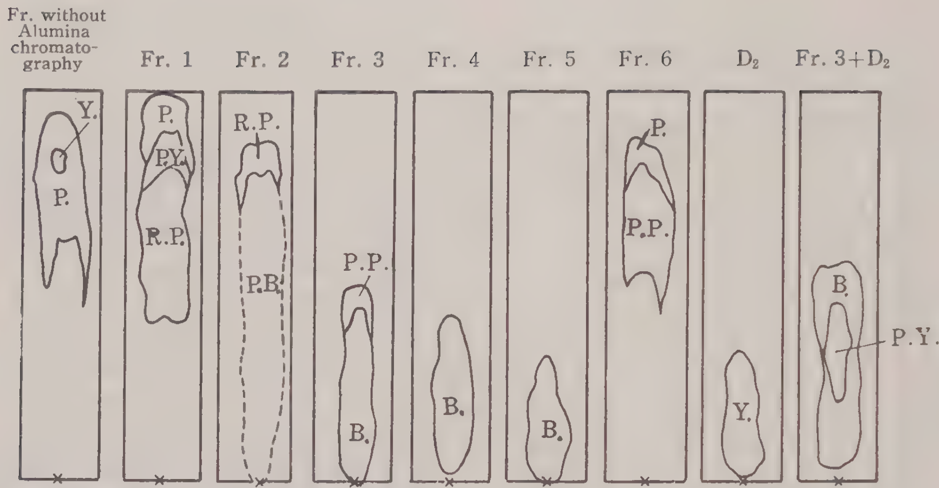
スケソウ肝油濃縮物の SPF 通過物を用い，Table 3 に示す条件でアルミナクロマトを行い，その各区

Table 3. 弱活性化アルミナによる濃縮ビタミン油 (SPF 通過物) のクロマトグラフ (その2)

Grouped alumina chromatography of concentrated vitamin oil after treatment with SPF—(2).

Fr. No.*	展開溶剤 Solvent for elution		
	種類 Kinds of solvent	容量 (cc) Volume of filtrates	
1	2% Ether/Light petroleum	10	Group 1
2	〃	10	
3	〃	10	Group 2
4	〃	10	
5	6% Ether/Light petroleum	10	
6	Ether	10	Group 3

* Fraction numbers refer to Figs. 4 and 5.



P: Purple, PP: Pale purple, RP: Redish purple, Y: Yellow, B: Blue, PB: Pale blue

Fig. 4. 沪紙クロマトによる各アルミナクロマト区分の展開
Paper chromatography of each fraction filtrated on alumina chromatography.

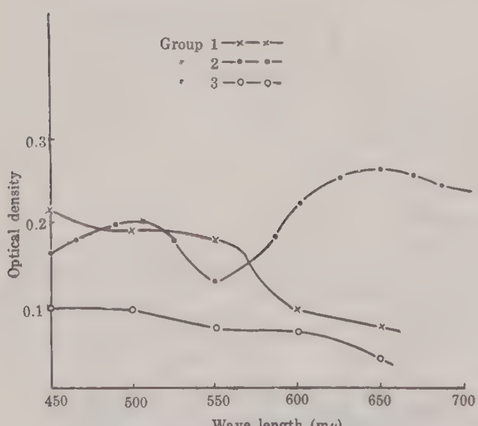


Fig. 5. アルミナクロマト区分の $SbCl_3$ 試薬呈色液の吸収曲線
Absorption curve of coloured solution of fraction groups of unsaponifiable matter after treatment of SPF by elution from water-weakened alumina.

分についてペーパークロマトを行つた。すなわち，各区分を Ca 沪紙* に spot し，石油エーテルで上昇展開を行い，$SbCl_3$ 試薬で spray し発色位置，状態を見た (Fig. 4)。試料を spot する量が適当でなかつたためか，テーリングが起り，正確な Rf を求めることは困難であつたが D の検出範囲は Rf 0.02～0.33で黄色を呈した。また，Fr. 3, 4, 5 には，ほぼ同じ範囲に spot を認めたが，その呈色は青色で，D を混じて展開，発色させても spot は重なつて2つに分離しなかつた。

Fr. 1, 2 と Fr. 3, 4, 5 と Fr. 6 の3つの群にあらためて分け，それぞれの $SbCl_3$ 試薬による呈色液のスペクトルを見ると Fig. 5 のようになる。すなわち，Ca 沪紙上では第2群の中に含まれる黄色を呈する D と青色を呈する物質とを分離することができなかつたがスペクトルの上では，はつきり分離することができた。

6. 定量操作

以上述べたように，弱活性化 SPF および弱活性化アルミナを使用することにより，D と非 D 呈色物とを分離することができたので，つぎのように定量操作を定めた。

試料を一定量とり，ヘキサン・エーテル (5：1) にとかし，弱活性化 SPF・セライト吸着層 (22×70 mm) を通し，ヘキサン・エーテルで展開し，最初の 30 cc をすて，つぎの溶出部 30 cc を D 画分としてとる。溶剤を蒸発したのち，少量の石油エーテルにとかし，第2段のアルミナクロマト操作にうつる。

* 東洋沪紙 No. 50 を用い BUKIN[4)]，鈴木[5)] らの調製法にしたがつて処理した。処理液として燐酸カルシウム溶液を用いた。

すなわち，試料溶液を弱活性化アルミナ吸着層 (10×120 mm) に通し，2% エーテル・石油エーテルで展開し，最初の 20 cc をすて，さらに同混合液 20 cc と 6% エーテル・石油エーテル液 20 cc で展開し，D 画分とする。溶剤を蒸発したのち，$CHCl_3$ の一定量にとかし，その 0.3 cc に $SbCl_3$ 試薬* 3.0 cc を加え，混和後 1 分の値を分光光度計 (500 mμ, 1 cm) で読む。

ただし，最初 SPF にかける試料中の D 量が 100γ をこえないようにする。このため，試料の採取量が少くなつたとき SPF 量もそれに応じて少くした方がよい。

7. 定量結果の補正法

上述の操作によつた定量結果は従来の方法による結果に比較すれば非常に D の真値に近いが，試料の種類によつては D 区分には D 定量値におよぼす不純物が相当含まれるため，なお過大値が得られる懸念がある。この不純物による誤りの補正を行うためビタミン A 定量のさいに行う MORTON・STUBBS の方法[6]に準じてつぎに述べる補正法を行つた。

著者らは純 D_2 の $SbCl_3$ 試薬による呈色液を用い多数の測定を行つた結果，吸収極大は 500 mμ，その極大値の 6/7 の吸光度を示す点は 490 mμ，508 mμ であることを知り得たので，試料の測定の時，常にこれらの波長を選ぶことにした。この波長範囲における非 D 呈色物による発色スペクトルが直線であると仮定すれば，補正係数 (f) すなわち $\frac{D_{500}}{E_{500}}$ はつぎの式によつて求められる。

$$f = 7 - 3.11 \times \frac{E_{490}}{E_{500}} - 3.89 \times \frac{E_{508}}{E_{500}}$$

ただし E_{500} は 500 mμ における補正吸光度，E_{490} は 490 mμ における見かけの吸光度である。

測 定 例

試料: スケソウ肝油濃縮物，A 含量 81.7 万単位，206 mg を採取，上述の定量操作により SPF およびアルミナクロマトを行う。D 相当区画の展開液を蒸発し $CHCl_3$ 6 cc にとかす。$SbCl_3$ 試薬で発色せしめ，波長 490, 500 および 508 mμ における 60″〜90″ 値を測定する。

$$\text{D量} = \frac{R \times k \times d}{W}$$

ただし　R = 分光光度計のよみ
k = 上記のよみを試料 1g 中に含まれる D の γ 数になおすための係数
d = 稀釈倍数
W = 供試試料の重量

すなわち

$$\text{D 量} \ \frac{0.255 \times 60.8 \times 6}{0.206} = 398\gamma/\text{g}$$
$$\fallingdotseq 16{,}000\ \text{I.U./g}$$

$$\begin{aligned}\text{補正 D 量} &= 16{,}000\ \text{I.U./g} \times f \\ &= 16{,}000\ \text{I.U./g} \times 0.58 \\ &= 9{,}200\ \text{I.U./g}\end{aligned}$$

8. 本法と従来法による D 定量値の比較

Table 4 に示すように，本法と従来法によるおのおのの値には相当の相違が認められるが，本法による値は $SbCl_3$ 試薬呈色液のスペクトルあるいはペーパークロマトで検出したものが純 D の呈色スペクトルと一致することを確認してある。

また著者らの使用した試料は大部分，分子蒸溜油を購入してこれを原料としたため，得られた不鹸化物中の D 単位を直ちに油中の単位に換算することができない。そこで Table 4 においては各試料について，肝油中の A 単位を推定し，D は分子蒸溜およびその後の鹸化濃縮操作中，A とともに濃縮されるものと仮定

* 200 mg/cc $SbCl_3$-クロロホルム液 20 cc に塩化アセチル 0.4 cc を加える。

Table 4. 本法と従来法との濃縮ビタミン油中の D 定量値の比較
Comparison of vitamin D obtained by the usual and proposed methods.

種類 Kind of material	A ×10⁴ I.U./g	D 本法 Proposed method	D 従来法 Usual method	D 文献値 Reference value in oil	A/D I.U.
カツオ Skipjack liver oil	Obs. 52.5 Ass.	1,580,000 121,000	1,880,000 143,000	25,000～250,000	0.3
鯨 Whale liver oil	Obs. 114.0 Ass.	35,400 930	116,000 3,500	—	3.2
カツオ幽門垂 Skipjack pyloric caeca	Obs. 10.9 Ass.	47,000 4,610	255,000 25,000	—	2.3
カツオ腸 Skipjack intestine	Obs. 7.5 Ass.	168,800 26,100	304,000 47,000	—	0.4
スケソウ Pollack liver oil	Obs. 81.7 Ass.	9,200 35	145,000 2,100	100	90
ヨシキリ Great blue shark liver oil	Obs. 78.8 Ass.	1,440 120	0	0～60	550
大ザメ Shark liver oil	Obs. 89.0 Ass.	2,550 140	35,200 1,980		350

Obs: 実測値 Observed value　　Ass: 油中に換算した推定値 Assumed value in oil

て肝油中の D 単位を推定した。

従来，D による $SbCl_3$ 試薬発色を妨害するものとしては A の存在が主として問題とされている。著者らの研究結果によれば，ヂギトニンやメタノールによつて除去できない不純物も A の分解物と同様に発色を妨害するように思われる。

SPF は A と D との分離の目的には好適な吸着剤であるが D に比して A の著しく多いものや，A 以外に $SbCl_3$ 試薬により発色する種々の非D呈色物の存在するもの，たとえば濃縮ビタミン油や水産動物組織中の D を定量するときにはこの SPF とアルミナを併用しなければならない。

各種の試料について D 画分の発色スペクトルを図示すると Fig. 6 のようになり，この波長 625 および 500 mμ における呈色比と A : D 比および補正に使用した *f* 値との関係を表示すると Table 5 のようになる。これによると，概して A : D 比の大きいもの程呈色比が大きく *f* 値が小さい傾向がある。

Table 5. D画分のスペクトルと補正係数
Comparison of spectral property and correction factor.

種類 Kind of material	A : D ratio (γ)	A : D ratio (I.U.)	呈色比 625 mμ/500 mμ	補正係数 *f*
カツオ Skipjack liver oil	4	0.3	0.04	0.85
鯨 Whale liver oil	38	3.2	0.35	0.31
カツオ幽門垂 Skipjack pyloric caeca	28	2.3	0.03	0.90
カツオ腸 Skipjack intestine	5	0.4	0.11	1.05
スケソウ Pollack liver oil	1,100	90	1.40	0.58
ヨシキリ Great blue shark liver oil	6,600	550	1.30	0.15
大ザメ Shark liver oil	4,200	350	1.50	0.29

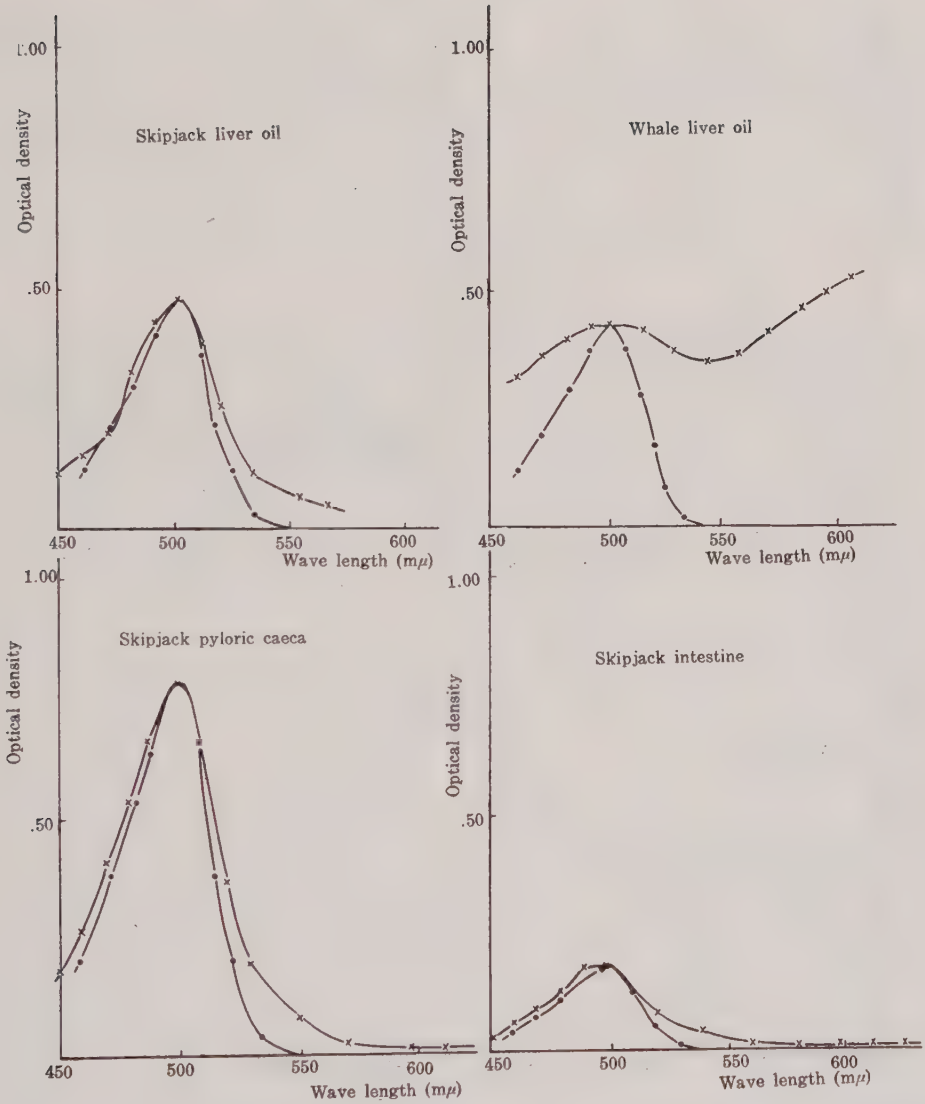
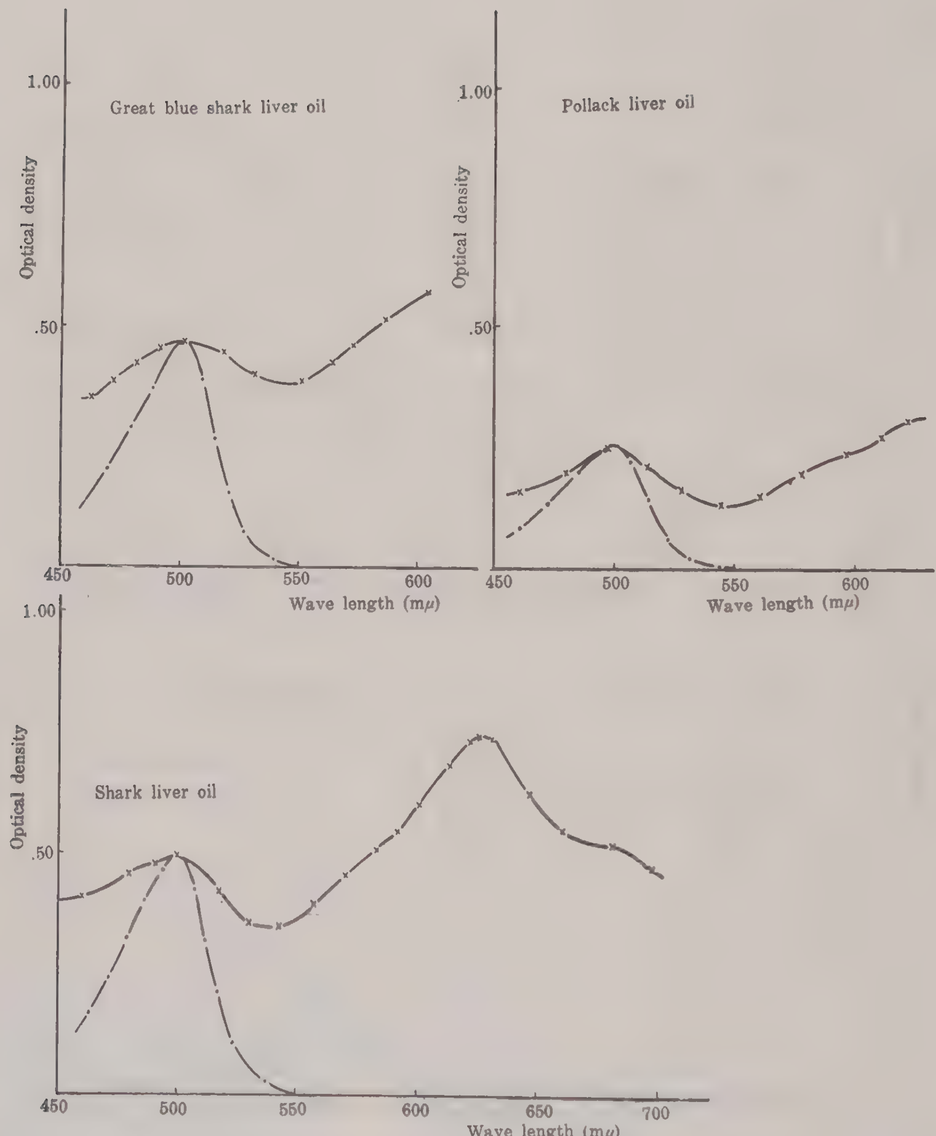


Fig. 6. 各試料 D

Absorption curve of each fraction containing D



区分のスペクトル
in samples from various material. (—·—·—, D_2)

本法は2段にクロマトを行う方法なので操作に 6〜7 時間を要する。定量値の正確さを期するには現在のところ，多少の繁雑さは止むを得ないと思う。

摘　　要

水産動物油中のビタミン D を理化学的に定量する方法について研究し，従来のクロマトグラフによる D 定量法の改良を試みた。

その結果，A，ステロール類等の非 D 呈色物を多く含む試料中の D 定量のさいには，SPF およびアルミナを吸剤とする二重クロマトを行う必要があり，更に $SbCl_3$ 試薬による呈色液の吸光比を求める場合，補正をしなければならないことを提案した。

本研究に当り終始御懇篤なる御指導を賜つた東秀雄博士に謹んで感謝の意を表する。

文　　献

1) Ewing, D. T., Schlabach, T. D. and Powell, M. T.: *Anal. Chem.*, **26**, 1406 (1954).
2) 沼田克彦: ビタミン, **11**, 361 (1956).
3) 沼田克彦: ビタミン, **11**, 444 (1956).
4) Bukin, W. N., Oarkina, I. N.: *Nahrung*, **4**, 357 (1958).
5) 鈴木隆雄: ビタミン, **13**, 212 (1957).
6) Moston, R. A,, Stubbs, A. L.: *J. Biochem.*, **41**, 525 (1947): *Ibid.*, **42**, 195 (1948).

魚肉の褐変に関する研究—II.

加熱による糖含量の変化と褐変

永　山　文　男

(1960 年 6 月 7 日受理)

STUDIES ON THE BROWNING OF FISH FLESH—II.

CHANGE OF SUGAR CONTENT BY HEAT PROCESS AND BROWNING

Fumio NAGAYAMA*

To know the role of sugar in the browning reaction, change of free reducing sugar content of fish flesh during heat processing was investigated.

Browning of fish flesh seemed to be independent of reducing sugar content (Table 1). Although amount of glucose, ribose, or total reducing sugars were decreased generally by autoclaving (Table 2), no linear correlation between the decreased amount of reducing sugar and the degree of browning of fish flesh. Also, no linear correlation was found between the content of free glucose or ribose and the degree of browning (Tables 3 and 4).

From these results, it is supposed that the differences of the degrees of browning among various species of fish are not only due to the content of free ribose or glucose, but due to another factors such as amino compounds which will combine with sugars.

The loss of sugars in the flesh by autoclaving was more or less greater in chopped state than in block (Table 5), but it appeared that there were no clear relationship between the state of flesh and the degree of browning. Browning of fish flesh by heat process is considered to be induced by the sugar-amino (protein) reaction.

It was tried to establish the indication of degree of browning by measurement of reflectance value (Table 7).

先[1]に白身魚肉の加熱による褐変について観察し，褐変の度合は魚種によりかなりの差があり，また同一魚種の場合でも鮮度の低下に伴い褐変度が増大する傾向のあることを報告した。したがつて氷蔵等により鮮度低下を防げば褐変もある程度は抑えられる。これは，褐変を誘起する物質が，鮮度低下に伴い分解生成物として筋肉内に蓄積されることを示すものであろう。しかし魚肉の褐変度を増大させる効果の著しいリボースを添加した場合でも，魚種によつて褐変度にかなりの差が認められる点から，すでにいわれているように遊離リボースの含量[2,3]のみが褐変度の大小を支配する主因子であるとは考えられず，他にも主要な因子の存在することを想定せねばならないのであるが，褐変の機構を明かにするために糖化合物の関連性を検討する必要がある。

魚肉中の遊離糖の定量法にも種々の問題があり，著者等は別に魚肉中の遊離糖の定量法について検討を加えた。すなわち，魚肉中にみられる遊離糖はグルコースおよびリリボースであつてフラクトースは遊離の糖としては全く認められない[4]。また，魚肉の抽出液中にはグルコースおよびリボースのごとき還元糖の他にも還元性を示す化合物が混在する。そこで，そのような夾雑物をイオン交換樹脂によつて除去し，砒酸-モリブデン酸法とオルシノール法とを併用してグルコースとリボースの量を求めることにした。

その定量法によつて更めて加熱による魚肉中の糖含量の変化を観察し褐変との関連を検討してみた。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Shiba Kaigandori-6, Minato-ku, Tokyo, Japan).

実　　　験

試　料　同一条件下で実験を行うためには活魚を使用することが望ましいが，各種の魚種を[illegible]として入手することが困難なため，市中の魚店から随時購入した。

糖の定量　魚肉 5g を秤取し，水 20 ml とホモジナイズ，遠心分離して沈殿を水 10 ml 宛で 2 回洗滌[illegible] Dowex 50 および Duolite A 4 で処理し，液を水で一定容にして亜鉛−モリブデン酸法およびオルソ[illegible]

褐変率　[illegible]液をその[illegible]に入れ，上部に薄いフラノイグラフを密着させて[illegible]し，酸化マグネシアの[illegible]を 100% の[illegible] DC [illegible]

結果および考察

生鮮魚肉中の遊離還元糖量　[illegible] 12 種[illegible] Table 1 に[illegible] 12.7～84.8 mg% [illegible] 12 種[illegible]

Table 1.　Content of free reducing sugar in fish flesh.

Species: Common name	Species: Scientific name	Reducing sugar*	Browning by autoclaving at 120°
Hirame Plaice	*Paralicthys olivaceus*	52.8	+
Asaba Flounder	*Lepidopsetta mochigarei*	41.6	+
Aka-garei Flounder	*Hypoglossoides dubius*	59.2	++
Isaki Perch	*Parapristipoma trilineatum*	59.2	++
Suzuki Seabass	*Lateolabrax japonicus*	84.8	—
Tara Cod	*Gadus macrocephalus*	48.8	—
Tobi-uo Flying fish	*Cypselurus agoo*	12.7	—
Aji Horse mackerel	*Trachurus japonicus*	23.2	—
Maguro Bluefin tuna	*Thunnus orientalis*	76.8	—
Saba Mackerel	*Scomber japonicus*	16.4	—
[illegible]	[illegible]	[illegible]	—
Sake Dog salmon	*Oncorhynchus keta*	64.0	—

* calculated as mg of glucose in 100g of fresh matter.

加熱に伴う遊離還元糖含量の変化　[illegible] 120° [illegible]に減少するもののようである。すなわち，Table 2 にみられるように加熱によって遊離還元糖は加熱前の[illegible]く褐変しないタラの糖量の変化には全く同じような傾向を示している。また褐変度の大きいアカガレイは加熱により遊離糖が皆無となっているが，同程度の褐変を起すアサバ，ヒラメではかなりの糖が残存している。[illegible]

の損失が褐変と直接関係があるとは認め難い。

加熱に伴う遊離グルコース含量の変化　前項ではグルコースとリボースを含めた遊離還元糖量について述べたが，グルコースのみについて分析したところ Table 3 のように，加熱によつてグルコースはほとんどあるいは完全に消失している。Table 3 中で褐変の明かな魚種はアカガレイのみであるが，グルコース含量，加熱によるグルコースの減少度，いずれも褐変度と明かな相関がない。グルコースが加熱によつて還元性を有しない化合物を形成するものと考えられるが，どのような化合物となるかは本実験では明らかでない。しかし，もし糖-アミノ化合物であつても，恐らく褐色度の強いものではないか，あるいは褐色物質を形成したとしても，量的に呈色の明かな程ではないと思われる。ここで褐変度の大きいアカガレイについては，別の可能性を考慮する必要がある。すなわち，グルコースの量は褐変しないスズキの1/2であるが，加熱によつて結合すべきもう一つの因子，アミノ化合物が，褐変を誘起しやすい（すなわち糖と結合することによつて褐色度の強い化合物を形成しやすい）性質を有し，スズキあるいはタラのアミノ化合物は褐色を起し難い性質のものであるということも想定し得る。

Table 2. Content of reducing sugar in fish flesh before and after autoclaving for one hour at 120°.

Species	Before autoclaving	After autoclaving	Loss of reducing sugar	
	mg%	mg%	mg%	%
Hirame	52.8	25.6	27.2	51.6
Asaba	41.6	16.0	25.6	61.6
Aka-garei	59.2	0	59.2	100
Isaki	59.2	28.3	30.9	52.2
Suzuki	84.8	13.6	71.2	84.0
Tara	48.8	21.6	27.2	55.8
Aji	23.2	4.8	18.4	79.4
Sake	64.0	6.4	57.6	90.0

Table 3. Content of free glucose in fish flesh before and after autoclaving.

Species	Before autoclaving	After autoclaving	Loss of glucose	
	mg%	mg%	mg%	%
Aka-garei	24.0	0	24.0	100
Suzuki	52.8	0	52.8	100
Aji	6.4	0	6.4	100
Sake	49.6	0	49.6	100
Tara	24.0	4.8	19.2	80

Table 4. Content of free ribose in fish flesh before and after autoclaving.

Species	Before autoclaving	After autoclaving	Loss of ribose	
	mg%	mg%	mg%	%
Aka-garei	44.0	4.0	40.0	90.9
Isaki	103	3.1	99.9	97.0
Suzuki	40.0	48.0	− 8.0	− 20.0
Tara	28.0	4.0	24.0	85.7
Aji	16.0	8.0	8.0	50.0
Maguro	52.0	116	−64.0	−123
Saba	20.0	24.0	− 4.0	− 20.0
Iwasi	20.0	48.0	−28.0	−140
Sake	12.0	4.0	8.0	66.7

加熱による遊離リボース含量の変化　グルコースについて行つたと同じような分析をリボースについても行つてみた。その結果は Table 4 に示すように，褐変度のはなはだしいイサキとアカガレイは遊離リボースの含量が比較的多く，加熱によつて 90% 以上が失われている。アジ，サケ，タラの遊離リボースも加熱によつて失われるが，これらの魚種で褐変が認められないのは，グルコースの項で述べたようにアミノ化合物の種類によることと，最初にある遊離リボース量が肉眼的に褐変を認めさせるほど充分でないこと等が原因として考えられる。しかしスズキ，サバ，イワシ，マグロについてはリボースの量からは説明することができない。これら 4 種の魚肉は褐変もみられず，リボース量は加熱によつて増加している。しかもスズキ

とマグロの最初のリボース含量は褐変を起すアカガレイのリボース含量と同じかそれ以上である。第I報で報告したように，リボースを添加すれば褐変度は増大するから，褐変の重要な因子の一つはリボースであろうという点は Tarr の報告に一致するものであるが，サケ，タラについて著者等が得た値は Tarr の報告と必ずしも一致しない。加熱によつて恐らく核酸系物質の分解が起り，生じたリボースが他の物質と結合する場合と，遊離のまま存在する場合とがあつて Table 4 のような分析結果を与えるものであろうが，リボースが失われずにあることは，糖以外の，リボースと結合すべき褐変因子が存在しないことを示すものと思われる。

加熱に伴う遊離還元糖量の変化と肉の状態　魚肉を切身のまま加熱処理した場合と，挽肉にして加熱した場合とで遊離還元糖量の変化に差があるか否か比較してみた。その結果は Table 5 に示すように，タラ，イサキともに余り顕著ではないが，切身のまま加熱したものの方が，挽肉よりもやや糖の減少度が小さい。一般に加圧蒸煮した場合，肉の切断面が最も強く着色するが，これは組織が破壊されることにより褐変を齊す因子が多量に生じやすいことを示すものであろう。

Table 5. Form of flesh and sugar content after autoclaving.

Sugar	Species	Form	Before autoclaving	After autoclaving	Loss of sugar	
			mg%	mg%	mg%	%
Glucose	Tara	Block	24.0	9.6	14.4	60.0
		Chopped		4.8	19.2	80.0
	Isaki	Block	trace	31.6	—	—
		Chopped		27.5	—	—
Ribose	Tara	Block	28.0	8.0	20.0	71.4
		Chopped		4.0	24.0	85.7
	Isaki	Block	103	3.1	99.9	97.0
		Chopped		0	103	100

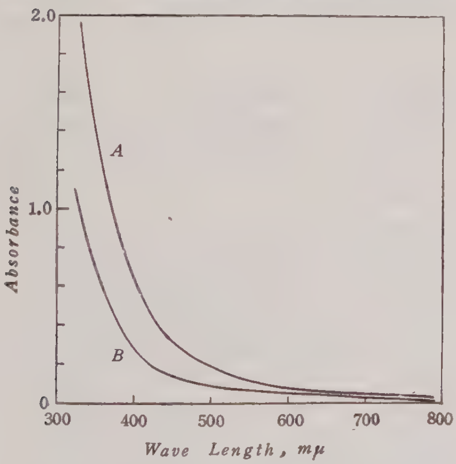


Fig. 1. Absorbance of autoclaved drip of fish flesh at different wave lengths.
Flesh was autoclaved for 1 hour at 120° with equal volume of water. Drip was filtered by the help of Standard Super Cell, and residue was washed with equal volume of water. *A*, "Isaki"; *B*, "Tobi-uo".

加熱処理による着色　イサキおよびトビウオの挽肉にそれぞれ水を等量加え 120°, 1時間加熱した後，更に水等量を加え攪拌し，珪藻土を加えて沪過した沪液の吸光度を測定した結果は Fig. 1 のごとくである。可視部に特異的な吸収帯は認められない。褐変のはなはだしいイサキの液汁に TCA，エタノール，酢酸鉛あるいは水酸化バリウム-硫酸亜鉛のごとき蛋白沈澱剤を加えると，褐色物質はほとんど沈澱するようにみえる。したがつて魚肉の加熱の際に起る糖アミノ反応は遊離の糖とアミノ酸によるものよりもむしろ，カゼ

Table 6. Nitrogen and sugar content in flesh of "Isaki".

	Fresh	Heated	
		100°	120°
Soluble nitrogen, %	0.68	0.46	1.19
Amino nitrogen, mg%	468	453	513
Free glucose, mg%	59.1	51.7	27.5
Free ribose, mg%	0	23.6	3.05

イン等の場合[5-8]と同様に，主として糖-蛋白反応によるものと考えられる。Table 6 にあげたように，加熱によるアミノ態Nの含量変化はさして明かでなく，可溶性 N が明かに増加していることと，蒸煮液汁の色が肉片そのものより濃いように見えることから，褐変反応は可溶性蛋白が関与するように思われるが，窒素化合物については更めて検討したい。

魚肉の反射率を測定すると Fig. 2 のような曲線が得られる。すなわち生肉では 410mμ に明かな谷があり，500 mμ 附近に緩かな肩がみられる。100° に加熱した場合には，この傾向を保つたまま全般的に反射率は増加する。しかし 120° に加熱すると谷および肩は消え，同時に反射率は減少する。生肉と 120° 加熱の肉とを比較した場合 410mμ の反射率はほとんど等しく，最も差の大きいのは 450 mμ である。魚肉の変色は糖-蛋白反応以外に筋肉色素，血色素，油脂等の変色も含まれるのであつて，反射率の値を以て直接褐変の指標とすることは必ずしも妥当でないが，著者はつぎのような計算によつて大凡の褐変度を表わすことを試みた:

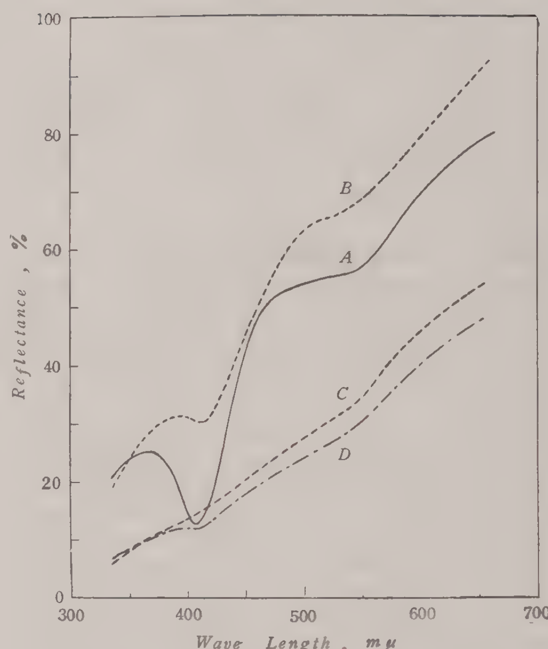


Fig. 2. Reflectance of fish flesh (Isaki) at different wave lengths.
Reflectance was measured on flesh homogenate with equal volume of water which had been added before heat process. *A*, fresh; *B*, heated at 100°; *C*, heated at 120° (block); *D*, heated at 120° (chopped).

$$K = \frac{R_{410}}{(R_{450})^2} \times 10^2$$

ただし R_{410} は 410 mμ の反射率，R_{450} は 450 mμ の反射率である。この計算式によつていくつかの試料について K を求めると Table 7 のようになる。すなわち，肉片をそのまま測定した試料 2 では K の値がかなり開いているが，測定面の不均一性を避けるために水とともにホモジナイズした試料 1 では肉眼的観察

Table 7. Reflectance of fish flesh (Isaki).

Wave length mμ	Fresh		Heated at 100°		Heated at 120°		
	1*	2#	1*	2#	1a*	1b*+	2#
410	13.0	8.1	30.1	28.3	14.6	12.1	4.1
425	21.2	10.3	33.0	32.3	16.0	14.1	4.7
450	42.5	19.8	45.0	41.8	20.2	17.9	5.8
500	54.0	24.5	62.8	57.5	27.5	24.0	8.9
$K\left(\frac{R_{410}\times 10^2}{(R_{450})^2}\right)$	0.73	2.06	1.49	1.62	3.60	3.78	12.2

* Reflectance was measured on homogenate with equal volume of water which had been added before heat process.
\+ Flesh was chopped before heat process.
\# Reflectance was measured without addition of water and homogenization.

と比較して K の値が相当適確に褐変度を表わすものと考える。この点について現在測定例を多数得ていないので，今後更に検討を加えたい。

要　　約

1. 加熱による魚肉の褐変と還元糖量の変化について観察した。

2. 褐変は筋肉中の遊離還元糖の含量と直接の関係がない。また遊離還元糖は一般に加熱によつて減少するが，その減少度と褐変度との間には直線的な相関が認められない。

3. 遊離のグルコースおよびリボースの含量ならびに加熱による減少度も褐変とは直線的相関を示さない。

4. 魚種による褐変度の差は，単に遊離リボースあるいはグルコースの含量のみによつて決定されるものでなく，それら糖と結合すべきもう一つの因子すなわちアミノ化合物が重要な役割を演じているものと考えられる。

5. 魚肉を加熱した際に起る褐変は，糖-アミノ化合物（主として蛋白）反応に基くものと思われる。

6. 反射率を測定しその値から褐変度を表わす係数を算出することを試みた。

終りに本研究を御指導下さつた小野豊樹教授ならびに分析に協力された池上義昭氏に感謝の意を表する。

文　　献

1) 小野・永山： 本誌，**24** (10), 833～836 (1959).
2) H. L. A. Tarr: *Nature*, **171**, 344 (1953).
3) H. L. A. Tarr: *Food Technol.*, **8** (1), 15～19 (1954).
4) F. Nagayama, T. Ono, F. Sakai and T. Kinoshita: *J. Tokyo Univ. Fisheries*, **45** (2), 163～171 (1959).
5) C. H. Lea and R. S. Hannan: *Biochim. Biophys. Acta*, **3**, 313～325 (1949).
6) V. M. Lewis and C. H. Lea: *Biochim, Biophys. Acta*, **4**, 532～534 (1950).
7) C. H. Lea and R. S. Hannan: *Biochim. Biophys. Acta*, **5**, 433～456 (1950).
8) K. V. Giri, P. B. Rama Rao and R. Rajagopalan: *Food Research*, **18** (2), 217～222 (1952).

スケトウタラ内臓油の高級アルコール*

内 藤 幸 次・橋 本 芳 郎

(1960 年 6 月 10 日受理)

HIGHER ALCOHOLS IN POLLACK VISCERA OIL

Koji NAITO and Yoshiro HASHIMOTO**

Hexadecanol, together with the less amount of tetradecanol, was found to occupy the greater part of fatty alcohols in pollack viscera oil. Two monoethenoid alcohols were isolated as minor components, and identified as Δ^{10}-eicosenol and Δ^{11}-docosenol, respectively. This may be the first finding of the occurrence of Δ^{10}-eicosenol in marine animal oils.

Unsaponifiable matters (364 g) obtained from commercial pollack viscera oil (29.7 kg) were dissolved in about one litre of acetone and left stand overnight to remove the most part of sterols. The remaining liquid unsaponifiables (198 g) were acetylated, and divided into five fractions by distillation under the reduced pressure, as shown in Table 1. Alcohols in each fraction were purified by alumina column chromatography and fractional crystallization from acetone at low temperature.

From the fractions I and II, tetradecanol (m.p. and mixed m.p. 37.8°C) and hexadecanol (m.p. and mixed m.p. 49.5°C) were obtained. They were also derived to phenylurethane or α-naphthylurethane for identification.

Colorless plates (m.p. 24.5～25.0°C) from the fraction III, were identified as Δ^{10}-eisocenol, by obtaining eicosanol (m.p. 65～66°C) on the hydrogenation in the presence of palladium black and two decomposition products, capric and sebacic acids, on the oxidation with potassium permanganate and chromic acid. By the similar method, the monoethenoid alcohol from the fraction IV, was identified as Δ^{11}-docosenol (m.p. 31.5°C), which gave docosanol (m.p. 70～70.5°C) on hydrogenation and both undecanoic and undecadioic acids on oxidation.

From the fractions III, IV and V, the considerable amounts of cholesterol and cholesta-3, 5-diene, a pyrolysis product of cholesteryl acetate, were isolated.

魚油の不鹸化物成分はサメ，マッコウ鯨のように比較的不鹸化物含量の多いものについてはその成分がかなり明らかにされているが，一般魚油は不鹸化物含量が低く，ビタミンA含量，ステリン量ならびに一部脂肪族炭化水素の存在が判つている程度で，その主成分と考えられる高級アルコールについてはあまり研究がおこなわれていない。最近，小森等[1]はウケグチタラ肝油の高級アルコール成分を検索し，主成分として Δ^{11}-docosenol の存在を認め，Δ^{11}-eicosenol, oleylalcohol 等の不飽和脂肪アルコールを分離している。

著者等はビタミンA源として産業上重要なスケトウタラ内臓油の不鹸化物成分のうち特に高級アルコールについて検索を試みたのでここに報告する。

実　　験

試 料　アルカリ消化法で採油したスケトウタラ内臓油 29.7 kg を常法にしたがつて鹸化，不鹸化物 364 g をえた。これを約 1000 ml のアセトンに溶解，0°C に一昼夜放置，析出するステリンを沪別し，液状油 298g をえた。これを2倍量の無水酢酸と加熱してアセチル化，酢化合物 295 g をえ，全ガラス製の塔

* 本研究の大要は 1960 年 4 月，日本農学大会水産部会において発表した。

** 東京大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. of Tokyo).

高 60 cm の電熱充塡式精留塔をもちい，ヘリックスを充塡物として 3 mmHg の減圧下に分留をおこなつた。分留結果は Table 1 のごとくである。

Table 1. Fractional distillation of acetates of unsaponifiables from pollack viscera oil.

Fractions	b.p. (°C)	Yield Wt. (g)	Sapon. value	Alcohols identified
I	89～150	51.0	163.7	Tetradecanol, Hexadecanol
II	150～170	41.5	154.1	〃
III	170～200	24.0	122.0	Cholesterol, Δ^{10}-Eicosenol
IV	200～220	38.0	101.9	Cholesterol, Δ^{11}-Docosenol
V	220～233	43.0	50.8	Cholesterol
Residue		67.0		

I. Tetradecanol (Myristylalcohol) および Hexadecanol (Cetylalcohol) の分離，確認

留分 I (38 g) を 50 m*l* の石油エーテルに溶解し，アルミナ (Merck 製アルミナを 200°C で 2 時間加熱，活性化したもの，以下同様に処理) を吸着剤としたクロマトグラフ (3×30 cm) をおこない， 約 300 m*l* の石油エーテルを展開剤としてもちい，アルミナに吸着されない画分 33 g をえた。高級アルコールの酢化合物はここに含まれる。石油エーテル溶出区分を常法にしたがつて鹸化，不鹸化物を 3 倍量のアセトンに溶解し 0°C に一昼夜放置すると多量の板状結晶が析出した。アセトンより数回再結晶を繰返し，無色の絹糸状光沢を有する板状結晶 9.3 g をえた。m.p. 49.5°C (mixed m.p. 49.5°C)，分子量 (Rast) 240， その酢酸溶液に臭素氷酢酸溶液を 1 滴加えても褪色しないことから本結晶は hexadecanol ($C_{16}H_{33}OH$) と判定した。さらに確認のため *α*-naphthylurethane となし，m.p. 82°C (mixed m.p. 82°C) の板状結晶をえ，これより hexadecanol なることを確認した。

hexadecanol を除いた母液より溶剤を留去後残留物をベンゼンに溶解， 再びアルミナクロマトグラフをおこなつて順次展開液の溶出力を高めベンゼン・エーテル混液 (2: 1) で溶出する部分を採り，アセトンに溶解して −5 ～ −10°C に冷却すると白い沈澱物が析出した。すみやかに沪別し，アセトンより低温で再結晶を繰返して 2.7g の無色板状結晶をえた。m.p. 37.8°C (mixed m.p. 37.8°C)，その酢酸溶液に臭素氷酢酸溶液 1 滴を加えても褪色せず， tetradecanol と考えられるので，その一部を phenylurethane となし，m.p. 70.7°C の結晶をえた。これより本結晶が tetradecanol なることを確認した。

留分 II においても全く同様の方法で留分 33 g より hexadecanol 10.2 g，tetradecanol 1.7 g をえた。なお hexadecanol の再結晶の際第 1 回目にえられる母液を濃縮後 −40°C に冷却すると白い析出物がえられ，アセトンより数回再結すると小さな板状結晶となり m.p. 41.0°C となつたが，再結後も融点上昇せず，また臭素氷酢酸液を褪色しないことから hexadecanol と tetradecanol の混合物であろうと思われる。

II. Δ^{10}-Eicosenol の分離，確認

留分 III (18 g) を石油エーテルに溶解，アルミナクロマトグラフをおこなつて石油エーテル溶出区分 12.2 g をえた。前実験と同様に不鹸化物をえ，アセトンに溶解して −5°C に数日間放置し， 析出した固形分を母液と分離した。母液は溶剤留去後ふたたびクロマトグラフをおこない石油エーテル，エーテル，アセトンと順次溶出力の強い溶剤をもちい，石油エーテル溶出区分 3.4 g (アセトン，エタノールに難溶，−50°C に冷却するも固化せず脂肪族炭化水素と思われる)，アセトン溶出区分 1.7 g (アセトンより数回再結，m.p. 148°C, cholesterol と思われる) をえた。

固形分 (3.8g) は石油エーテルに溶解し，ふたたびクロマトグラフをおこなつた。石油エーテル，エーテル，メタノールの順に溶出をおこない，石油エーテル溶出区分 0.9 g (アセトンより数回再結， 収量 0.7 g，柱状結晶，m.p. 78.8°C，cholesta-3, 5-diene で cholesteryl acetate の熱分解によつて生成したもの。こ

の点については別に報告する)，メタノール溶出区分 0.5g (メタノールより再結，収量 0.3g，無色板状結晶，m.p. 147.5°C, cholesterol と思われる) をえたが過半量が第2番目の溶剤，エーテルで溶出された。エーテルを留去後少量のアセトンに溶解して −20°C に冷却，析出したロウ状物質をすみやかに沪別し，数回稀アセトンより再結を繰返し，無色の結晶 1.4g，m.p. 25°C をえた。

この結晶の一部をとり氷酢酸に溶解，臭素氷酢酸液を 1〜2 滴加えると直ちに褪色し，また二，三のステリン反応は陰性で，不飽和直鎖アルコールと考え，精製の目的でふたたびアルミナクロマトグラフをおこなつた。ベンゼンに溶解し，徐々にエーテル濃度を増したところベンゼン・エーテル混液 (7: 3) で結晶の大部分が脱着された。溶剤を留去し，m.p. 24.5〜25.0°C の小さな板状結晶 0.9g をえた。この結晶の元素分析の結果は C: 80.90，H: 13.42% で eicosenol ($C_{20}H_{40}O$) の計算値 C: 81.01，H: 13.59% とよく一致する。さらにパラジュウム黒を触媒とし，無水アルコールを溶剤として水素添加をおこない，m.p. 65〜66°C の結晶をえた。この融点は eicosanol の融点 65.5°C によく一致した。したがつて原アルコールは eicosenol と判定した。

つぎにこの eicosenol を無水酢酸と加熱してふたたび acetate となし，10倍量のアセトンに溶解，試料の6倍量の過マンガン酸カリ粉末を1.5時間にわたつて添加，酸化分解を完結させるためにさらに 16 時間湯浴上で加熱した。アセトンを留去後生成した二酸化マンガンを亜硫酸水で溶解し，分解物をエーテル抽出してエーテル層に集め，さらに炭酸ソーダ抽出をおこなつて未分解物と分離した。炭酸ソーダ抽出液には脂肪酸とオキシ酸 acetate が含まれているのでオキシ酸 acetate をオキシ酸とするために苛性カリを使用して鹸化，鹸化液に塩酸を加えて酸性となし，石油エーテル抽出をおこなつた。この際石油エーテルに不溶のオキシ酸は石油エーテル層と水層の界面に懸濁するので沪過によつて脂肪酸と分離できた[2)]。オキシ酸はエーテルに溶解して集め，石油エーテルよりは脂肪酸をえて，つぎのごとく検索した。

石油エーテルを留去してえた脂肪酸区分は白色ワセリンようの固体で少量のため分留しえなかつたが，m.p. 29.0〜29.3°C，中和価 323.1 で capric acid の m.p. 31.5°C，中和価 325.7 に非常に近いが，融点が多少低いので酸アミドとした。塩化チオニールで脂肪酸塩化物となし，これをアンモニア水と反応させ脂肪酸アミドとした[3)]。稀アルコールより数回再結し，m.p. 96.5〜97.0°C (capric acid のアミド m.p. 98°C) の白い葉状結晶をえた。

以上の性状より脂肪酸は capric acid $CH_3(CH_2)_8COOH$ と判定した。

エーテルを留去してえたオキシ酸を 10 倍量の氷酢酸に溶解，無水クロム酸を加えて沸騰浴上で1時間加温，二塩基性酸とした[4)]。反応生成物をエーテルに溶解後，多量の水を加えて水洗し，エーテルを留去した残渣を数回熱水より再結し，無色葉状結晶をえた。m.p. 129〜130°C，中和価 539.3 でこの二塩基性酸は sebacic acid ($HOOC\cdot(CH_2)_8\cdot COOH$, m.p. 133°C，中和価 554.8) と判定した。

以上の結果よりこの eicosenol の構造は $\Delta^{10:11}$-eicosenol $CH_3\cdot(CH_2)_8CH:CH(CH_2)_8CH_2OH$ であることを確認した。

Δ^{10}-eicosenol はこれまで人間の毛髪の脂肪にその存在が明らかにされている[5)]のみで水産油脂での存在は始めてである。

III. Δ^{11}-Docosenol の分離，確認

留分 IV (22.5g) を石油エーテルに溶解，アルミナクロマトグラフをおこなつて石油エーテル溶出区分 20.8g をえた。これを鹸化後ふたたびクロマドグラフをおこなつて石油エーテル溶出区分とメタノール溶出区分に分けた。

石油エーテル溶出区分はアセトンに溶解し，−5°C に一昼夜放置すると多量の柱状結晶が析出し，アセトンより数回再結後，無色の柱状結晶 5.4g をえた。この結晶は m.p. 77°C，$[\alpha]_D^{16} = -118°$ ($CHCl_3$)，λ_{max} = 235mμ (EtOH)，LIEBERMANN-BURCHARD 反応陽性で cholesta-3, 5-diene である。

メタノール溶出区分 7.8g を少量のアセトンに溶解し，約 5°C に一昼夜放置すると結晶が析出した。メタノールより数回再結を繰返し無色板状結晶 1.7g をえた。m.p. 148〜148.5°C，$[\alpha]_D^{15} = -34.5°$，アルコール溶液はジギトニンと沈殿反応を示し，LIEBERMANN-BURCHARD 反応陽性であることから cholesterol と判定した。この cholesterol を沪別した母液より溶剤を留去し，石油エーテルに溶解，ふたたびアルミナクロマトグラフをおこない，展開剤に石油エーテル，エーテル，アセトンをもちい，エーテル溶出区分 3.8g をえた。

これをアセトンに溶解し，ドライアイスで −20°C に保ち，析出する結晶を素早く沪別し，m.p. 31.5°C の無色結晶 1.8g をえた。この結晶は LIEBERMANN-BURCHARD 反応が陰性で一部を氷酢酸に溶解し，臭素・氷酢酸溶液を数滴加えても直ちに褪色するので不飽和アルコールが存在するものと考え，精製の目的でさらにアルミナクロマトグラフをおこなつた。結晶の大部分はベンゼン・エーテル混液 (2: 1) で溶出され m.p. 30〜31.5°C の無色板状結晶 1.4g をえた。元素分析結果は C: 81.05, H: 13.65% で docosenol ($C_{20}H_{44}O$) の計算値 C: 81.50, H: 13.66% とよく一致した。パラジウム黒を触媒として水素添加を行つた結果，m.p. 70〜70.5°C を示した。この融点は docosanol の m.p. 70.3〜70.8°C によく一致した。すなわち原アルコールは融点，前記の性状より docosenol であることを確認した。

つぎに前述の eicosenol の構造決定の場合と全く同様に acetate を過マンガン酸カリで酸化分解し，脂肪酸とオキシ酸となし，オキシ酸をクロム酸酸化で二塩基性酸とした。酸化分解してえた脂肪酸はやや褐色を帯びていたので減圧分留によりその主留分と思われる 120〜141°C/2〜3 mmHg の留分をえた。m.p. 27.0〜27.5°C, 中和価 301.4 でこの脂肪酸よりえたアミドは m.p. 97.5°C を示し，これらの特数より本脂肪酸が undecanoic acid ($CH_3\cdot(CH_2)_9COOH$, m.p. 28.5°C, 中和価 301.2, アミドの m.p. 98.5°C) であることを確認した。

一方クロム酸酸化でえた二塩基性酸は熱水より数回再結したところ無色の小さな板状結晶をえた。m.p. 113°C, 中和価 508.0 で，この特数よりこの二塩基性酸は undecanedioic acid ($HOOC\cdot(CH_2)_9\cdot COOH$, m.p. 113.2°C, 中和価 518.8) であることを確認した。

以上の実験結果より docosenol の構造は $\Delta^{11:12}$-docosenol $CH_3(CH_2)_9CH : CH(CH_2)_9CH_2OH$ であることが明らかとなつた。

なお Δ^{11}-docosenol の水産油脂での存在はウケグチタラ肝油[1]，イソギンチャク油脂[6]ですでに報告されている。

留分 V は留分 IV と同様に分画をおこなつたが，その主成分として cholesta-3,5-diene と cholesterol の結晶をえたのみで，脂肪族高級アルコールの存在は認めなかつた。

総　　　括

スケトウタラ内臓油の高級アルコールを検索する目的で不鹸化物の酢化合物を減圧分留し，各留分について検討をおこなつた。低沸点留分よりはアルミナクロマトグラフ，低温結晶化法等を試みて tetradecanol, および hexadecanol を分離し，それぞれ urethane をえて確認した。高沸点留分よりは同様にクロマトグラフ，低温結晶化等の操作により水産油脂ではこれまでに報告を見ない Δ^{10}-eicosenol，ならびにウケグチタラ，イソギンチャク油脂にその存在が明らかにされている Δ^{11}-docosenol を分離した。これらの monoethenoid alcohol は水素添加，過マンガン酸カリによる酸化分解，さらにクロム酸酸化法等によつて構造を決定した。

スケトウタラ内臓油の高級アルコールはその主成分が hexadecanol で，tetradecanol が，これにつぎ，eicosenol, docosenol の含量は極めて少いようである。なおアルコールの存在は本実験では認められなかつた。

終りに臨み不鹸化物の分取に協力を賜わつた日本水産研究所ならびに当研究室徳田節子氏，高級アルコールの分離，確認に協力された当研究室堤　淳三君および元素分析を担当された東大農芸化学分析室の方々に厚く感謝の意を表する。本実験の一部は文部省科学研究費によつておこなわれたものである。

文　　　献

1) 小森三郎・阿河利男: 日化, **75**, 1051 (1954).
2) 喜多源逸編: 油脂化学及び試験法, p. 341, 至文堂, (1958).
3) 浅野三千三: 薬誌, No. 480, 97 (1922).
4) 外山修之: 日化, **59**, 810 (1938).
5) HOUGEN, F. H.: *Biochem. J.*, **59**, 302 (1955).
6) BERGMANN, W., CREIGHTON, S. M. and STOCKES, W. M.: *J. Org. Chem.*, **21**, 721 (1956).

Cholesteryl acetate の熱分解*

内藤幸次・徳田節子・橋本芳郎

(1960 年 6 月 13 日受理)

PYROLYSIS OF CHOLESTERYL ACETATE

Koji Naito, Setsuko Tokuda and Yoshiro Hashimoto**

When the solid part of acetylated unsaponifiables from pollack viscera oil was distilled at 2 mmHg, a considerable amount of needles (m.p. 78°C) was obtained from the distillate up to 238°C and they were identified as cholesta-3, 5-diene by the estimation of elemental composition, molecular weight, rotation and ultraviolet absorption spectrum (Fig. 1). This substance, however, was proved to be an artefact due to the pyrolysis of cholesteryl acetate, as the hydrocarbon was not detected in the same unsaponifiables from pollack viscera oil, when for fractionation the alumina column chromatography was applied instead of distillation procedure. As shown in Table 1, on the other hand, cholesteryl acetate was found to decompose easily on heating without any catalyst and to give cholesta-3, 5-diene in good yield. The pyrolysis temperature was considerably lower than the recorded ones on cholesterol or other cholesteryl derivatives.

スケトウタラ内臓油はビタミンA源として工業的に広く採油され，その大部分は分子蒸留によつてA濃縮物とされている。分子蒸留においてA留分より前に留出するいわゆる初留分は原油に対して 10 数倍から数 10 倍の不鹸化物を含有するため著者らはスケトウタラ内臓油の不鹸化物成分を検索するのに適当な原料と考え，その酢化合物を減圧分留して分画したところ高沸点留分より多量の cholesta 3, 5-diene の結晶をえた。

魚油の炭化水素はこれまで脂肪族のものに限られ，環状のものの存在は認められていないし，cholesta-3, 5-diene が天然に存在するという報告もなく，この物質は分子蒸留中あるいは不鹸化物酢化合物の減圧分留中に cholesterol またはその acetate から熱分解の結果生じた二次的生成物と疑われた。

cholesterol の熱分解についてはかなり数多くの報告があり，cholesterol を 340°C に加熱した場合[1]，あるいは cholesterol の種々の誘導体を種々の触媒たとえばナトリウムアマルガム[2)]，イソプロピルアルミニウム[3)]，リチウムアルミニウムハイドライド[4)]，ホウ酸[5)]，硫酸銅[6)]と加熱した場合 cholesta-3, 5-diene を生成することが明らかにされ，その製法にも応用されている。しかし cholesteryl acetate については分解することなく蒸留され，蒸留中に光に照射されると炭化水素を生成するらしいという記載[7] がある程度でその熱分解についてはこれまでほとんど判つていないようである。

そこで choresteryl acetate の熱分解について調べたところ，触媒がなくても比較的容易に熱分解し，収量よく cholesta-3, 5-diene に変ることが確認された。またこの点を注意して再検討したところ天然ビタミン油および分子蒸留初留分には本物質が存在しないことおよび始めにえた cholesta 3, 5-diene は cholesteryl acetate よりの二次的生成物に外ならず明らかに artefact であることが判明した。以下その大要を報告する。

* 本研究の大要は 1960 年 4 月，日本農学大会水産部会において発表した。
** 東京大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Univ. of Tokyo).

実　　験

I. 減圧蒸留高沸点留分より cholesta-3, 5-diene の分離

北海道産スケトウタラ内臓油をNビタミン油会社において分子蒸留に附し, $10^{-3}\sim^{-4}$ mmHg, 200°C までの留分を原料油とした。この原料油 6kg を常法により鹸化, 不鹸化物 1,740g (28.7%) をえた。ついで無水酢酸と加熱し, 酢化合物をえ, これを室温に数日間放置するとステリン状固形分が析出するのでこれを液状油区分と沪別した。

ステリン状固形分の一部 (43g) をヘリックスを充塡した塔高 15cm の電熱充塡式精留塔をもちいて 2mmHg の減圧下に分留した。150°C 前後より留出し始め過半量 (29.7g) が 238°C で留出した。この留分は淡黄色を帯び, 強い螢光を放ち, 鹸化価 (2.10) も低く, 炭化水素の存在が考えられた。室温に数日放置すると固化したのでアセトンを加えて加温溶解すると, 冷後大きな針状結晶が析出し, さらにアセトンより数回再結を繰返し, ついで結晶を石油エーテルに溶解, 150°C で1時間活性化したアルミナでクロマトグラフィーをおこない, 石油エーテル溶出区分より溶剤を留去, アセトンより再結をおこなつて針状結晶 19.8g をえた。m. p. 79.5°, $[\alpha]_D^{23}-116°$ ($CHCl_3$), λmax 235mμ, ε 19,350 (in EtOH), 分子量 376.5 (Rast 法), LIEBERMANN-BURCHARD 反応陽性 (赤紫-青-緑) でこれらの諸性質ならびに Fig. 1 に示すごとくアルコール溶液の紫外部吸収曲線は cholesta-3, 5-diene の文献値とよく一致し, 元素分析結果は C: 87.75%, H: 12.13% で $C_{27}H_{44}$ の計算値 (C: 87.96, H: 12.04) とよく一致した。

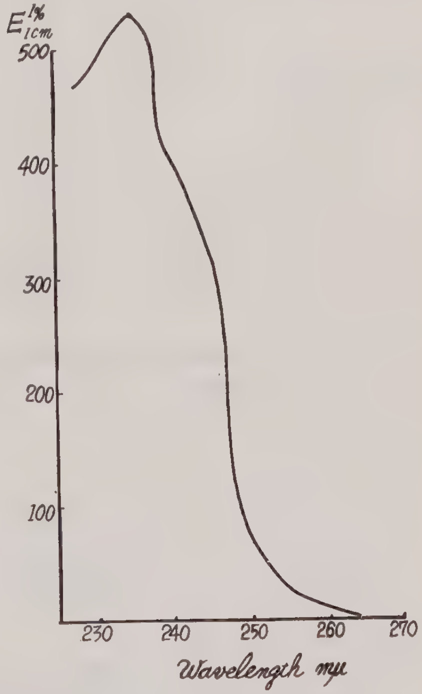


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum of cholesta-3, 5-diene.

II. Cholesteryl acetate の熱分解

市販 cholesterol を無水酢酸と加熱, cholesteryl acetate となし, アルミナクロマトグラフィーをおこなつて精製した (m.p. 114.7°, $[\alpha]_D^{16}-44°$ ($CHCl_3$)) 後試料とした。

試料 3～5g を 10ml 容ナス型フラスコに精秤し, 試料の中に水銀部が完全に入るように温度計を装置し直射光線を避けるためナス型フラスコを石綿で完全に包んでからマントルヒーター中で一定時間, 一定温度で熱分解をおこなつた。

分解物は粘稠な褐色を帯びた液状物で, 少量のベンセンに溶解後, 未分解の cholesteryl acetate を cholesterol とするため鹸化, 不鹸化物を石油エーテルに溶解し, 200°C で2時間加熱して活性化したアルミナをもちいクロマトグラフをおこなつた。

試料 3～5g の場合, 生成する cholesta-3, 5-diene を 1.3×45.0cm のアルミナカラムに通し, 展開剤に石油エーテルをもちいると 30～40ml で溶出し始め, 200ml までに完全に溶出することを予備実験で確めたので, 本実験では 250～300ml の石油エーテルを使用した。

石油エーテル溶出区分の重量を cholesta-3, 5-diene の生成量とし, アセトンより再結後, 融点, 吸収極大, 吸光係数, 旋光度を測定した。

実験結果は Table 1 に示すごとくで cholesteryl acetate は 240°C で1時間加熱すればその一部が分解し cholesta-3, 5-diene が生成すること, 加熱時間が長くなると生成量も増加し, 加熱温度が高くなると分解がいちじるしく進行することが判つた。

Table 1. The yield and properties of cholesta-3, 5-diene from cholesteryl acetate in pyrolysis*.

Pyrolysis		Yield	m.p.	$[\alpha]_D^{16}$	Absorption maximum (in EtOH)	
Temp. (°C)	Time (hr.)	(%)	(°C)	(in $CHCl_3$)	max. mμ	$E_{cm}^{1\%}$
300	1	70.8	78.3	−113.8	235	526.2
280	1	40.2	78	−111.5	235	531.1
260	1	9.7	77	−113.4	235	529.7
240	1	2.5	77.5	—	235	522.7
240	5	7.2	78〜79	—	235	584.2

* After saponification, pyrolysis products were dissolved in petroleum ether and passed down through an alumina column. Solids in the petroleum ether effluent were weighed and represented as yield. Melting point, rotation and ultraviolet absorption were estimated after the crystallization from acetone.

III. 天然ビタミン油およびその分子蒸留初留分中の cholesta-3, 5-diene の存否

これまでにえた実験結果より cholesta-3, 5 diene が cholesteryl acetate の熱分解によつて生成することが明らかとなつたので天然ビタミン油およびその分子蒸留初留分 (〜200°/10^{-3}〜$^{-4}$ mmHg) の不鹸化物を分留操作をおこなわずアルミナクロマトグラフィーのみで分画し, cholesta-3, 5-diene の有無を検討した。各不鹸化物を直接アルミナカラムにかけてえた石油エーテル溶出区分はあめ状で, −5°C に放置しても結晶の析出が認められなかつた。さらに LIEBERMANN-BURCHARD 反応も僅に淡褐色を呈するのみで特徴的な赤紫→青→緑の呈色を示さず, これらの点より天然ビタミン油および, その分子蒸留初留分中には cholesta-3, 5-diene は存在しないものと判定した。またここにえたあめ状物質はその性質より恐らく脂肪族炭化水素と思われる。

IV. cholesta-3, 5-diene の熱分解

cholesta-3, 5-diene の針状結晶を融点以上に熱するとあめ状となり冷しても直ちに固化しないようになる。しかしあめ状のものを温アセトンに溶解, 冷却すると最初の針状結晶がえられる。しかし加熱時間が多少長くなると淡黄色を帯び, アセトンより結晶化を試みてももとのような大きな針状結晶はえられず, 結晶の析出にも時間を要し, 融点, 旋光度とも減少する。

たとえば cholesta-3, 5-diene の結晶をそのまま 95°C 前後の恒温器中に放置すると融点, $[\alpha]_D^{16}$, $E_{\lambda max}^{1\%}$ はそれぞれ 1 時間で 76.5°, −116°, 303, 3 時間で 72°, −90°, 241, 5 時間で 56〜59°, −69°, 153 に変化する。吸収極大は常に 235 mμ に認められるが, 鋭い吸収極大が徐々に平滑となり, 長波長側の吸光値が増大する。また融点, 旋光度が一度低下したものはアセトンより再結を繰返しても回復しなかつた。これは恐らく cholesta-3, 5-diene がその熱分解物と混晶をつくるためと思われる。

考　　察

辻本等[8] はサメ肝油不鹸化物を分留し squalene をうる際 300°C 近くまで加熱している。この他比較的高温で油脂を分画蒸留した例もあるのでわれわれはスケトウタラ内臓油不鹸化物の酢化合物を 300°C 近くまで加熱, 分留してみたが二次生成物として cholesta-3, 5 diene が生成することを知つた。本実験でみられるように cholesteryl acetate は常圧 240°C 附近より熱分解を始めるので今後 cholesterol 含量の多い動物油脂不鹸化物を取扱う上にこの种の注意が必要なことが判つた。また蒸留の際浴温は留出温度よりかなり高いのが普通であるから, 200°C 前後の留出物には cholesta-3, 5-diene が混在し始めるものと考えねばなるまい。事実別に報告するようにスケトウタラ内臓油の酢化合物を分留した際 3 mmHg, 170〜200°C の留分から cholesta-3, 5-diene を分離することができた。

FALK 等[1] は cholesterol を 340°C に加熱して始めて分解物に cholesta-3, 5-diene がえられたと報告しているが，われわれの実験結果から cholesteryl acetate の方がはるかに低温で熱分解し，cholesta-3, 5-diene を与えることが判る。また，われわれは acetate として蒸留したために容易に cholesta-3, 5-diene が生成したが，高真空の分子蒸留油初留分にこの物質が検出されないのは遊離 cholesterol または高級脂肪酸エステルが acetate より熱分解し難いこと，および分子蒸留では加熱時間が極めて短時間であることによるものと思われる。

一方 cholesterol の熱分解物には cholestenone, cholesta-3, 5-diene, cholesterol の naphthalene 誘導体，methylcyclopentenophenanthrene および chrysene 等各種の分解物が生成することが記載されている[1] が，cholesteryl acetate の場合 Table 1 にみられるように生成物の主なものはこの cholesta-3, 5-diene であることが判る。cholesteryl acetate を加熱する方法は cholesta-3, 5-diene の簡易な製法として応用できそうである。

最後に精製した cholesta-3, 5-diene がかなり熱に不安定なことは，これまで報告された融点，旋光度が著者によりかなりふれている一因をなすものと思われる。

終りに臨み終始実験に協力された当研究室野口玉雄君に厚く謝意を表する。本研究費の一部は文部省科学研究費によるものである。

文　献

1) FALK, H. L., GOLDFEIN, S. and STEINER, P. E.: *Cancer Research*, **9**, 438 (1949).
2) GRENT, B. B. and MCKENNA, J.: *J. Chem. Soc.*, 573 (1956).
3) BRECKER, E. J. and WALLIS, E. S.: *J. Org. Chem.*, **20**, 353 (1955).
4) SCHMID, H. and KÄGI, K.: *Helv. Chim. Acta*, **35**, 2194 (1952).
5) O' CONNER, G. L. and NACE, H. R.: *J. Am. Chem, Soc.*, **77**, 1578 (1955).
6) FUDGE, A. J., SHOPPEE, C. W. and SUMMERS, G. H. R.: *J. Chem. Soc.*, 958 (1954).
7) BERGMANN, E. and HIRSHBERG, Y.: *Nature*, **142**, 1037 (1938).
8) 辻本満丸：肝油の研究，p. 110 (1931).

TRYPTOPHAN CONTENT OF FISH MEAT

Shōji Kōnosu and Fumio Matsuura*

(*Received September 3, 1960*)

In 1959, the fundamental modification of the dietary allowance for Japanese was recommended by the Resources Council of the Science and Technic Agency.[1] In evaluation of the nutritive value of proteinous foods, the conception of protein score was introduced for the first time after the system instituted by FAO and the value as low as 70 was adopted as the protein score of fish meat from the content of the first limiting amino acid, tryptophan, while the fairly higher values, 83 and 86, were respectively given to beef and pork. This led the agency to attach importance to livestock products as the protein source for Japanese and to reduce the reliance of the people to marine products in future.

This recommendation was also supported by Yoshimura and Usami[2], who described that the intake of fish meat does not improve the quality of food of the Japanese, as the tryptophan content of fish meat is almost at the same level as that of rice protein. Inagaki[3] discussed this problem on the same standpoint.

The value of tryptophan, the most important key-point in these considerations, was entirely derived from the table in the monograph, entitled "Amino Acid Content of Foods", edited by Orr and Watt[4], in which the mean tryptophan content of fish meat was calculated to be 62 mg. per 1 g. of nitrogen or 0.99 g. per 16 g. of nitrogen by averaging the values of 169 samples collected from several different sources.

This value is, however, considerably low when compared with the values presented by several workers including the present authors[5-9]. In addition, the low appraisal for the protein score of fish meat is inconsistent with the so far accepted view that the biological value of fish meat is well comparable to that of beef or pork.

In the light of importance of fish as animal protein sources in Japan, it is desirable to treat this problem more prudently and to review the tryptophan content of fish meat.

The present paper deals with the results of some examinations on the determination of tryptophan and the data obtained in the analysis of various kinds of raw and processed fish meats which are common in this country.

Experimental

Materials

Raw fish. The fresh fish were obtained from the fish market at Tsukiji. Body weight of the fish and the portions taken for analysis are shown in Table 1.

* Lab. of Fish. Chem., Fac. of Agr., The Univ. of Tokyo (東京大学農学部 鴻巣章二・松浦文雄).

Table 1. The explanation of raw fish and meat samples.

Code	Scientific name	Common name	Body weight (g.)	Parts taken for analysis	Remarks
SDRE	*Sardinops melanosticta*	Sardine (Maiwashi)	120~130*	Whole body except head and tail	Five fishes were used for each sample.
SDRFS				Flesh and skin	
SDRF				Flesh	
SDRP				Muscle protein**	
MARFS	*Scomber japonicus*	Mackerel (Saba)	500~700*	Flesh and skin	One fish was used for each sample.
MARF				Flesh	
MARP				Muscle protein**	
SRRFS	*Cololabis saira*	Saury (Sanma)	130~150	Flesh and skin	Five fishes were used for each sample.
SRRF				Flesh	
SMRF	*Makaira mitsukurii*	Striped marlin (Makajiki)	—	Flesh	Fillet of the middle part of the body was obtained.
SMRP				Muscle protein**	
BHRF	*Paralichthys olivaceus*	Bastard halibut (Hirame)	540, 560	Flesh	Two fishes were used.
CORF	*Gadus macrocephalus*	Cod (Madara)	1640	Flesh	One fish was used.
YTRF	*Germo macropterus*	Yellowfin tuna (Kihadamaguro)	—	Flesh	Fillet of the middle part of the body was obtained.
FMRP	*Auxis thazard*	Frigate mackerel (Sodagatsuo)	250~300	Muscle protein**	Three fishes were used.
BERF	—	Beef	—	Loin	Fatty tissues were removed.
PORF	—	Pork	—	Loin	
CHRF	—	Chicken	—	Light meat	

* These fishes were also used for the canned and salt-dried products.

** The flesh, from which connective tissues were removed as carefully as possible, was extracted with 80% aqueous alcohol and ether.

Canned fish. The materials were of the same lot as given in Table 1.

After removal of the heads, tails and viscera, the edible portion of sardines was cleaned with water, then slightly salted in 10% salt solution for 30 minutes and packed in No. 5 cans. The cans were steamed for 40 minutes at 98°C, sealed while hot and sterilized for 40 minutes at 9 pounds pressure. The canned mackerel was prepared in a similar manner. The edible parts were cut into pieces of the container-height, salted in 15% salt solution for 15 minutes and packed in No. 2 cans. After steaming for 10 minutes at 90°C, the cans were sealed immediately and again heated for 100 minutes at 10 pounds pressure. These cans were opened on the next day. The portions analyzed are given in Table 2.

Salt-dried fish. The materials were of the same lot as shown in Table 1.

The sardine was cleaned in 3% salt solution and immersed in the saturated salt solution for 5 hours. After slight washing with water, the fish was sun-dried for 7 days in the open air. In the case of mackerel, the fish was decapitated and eviscerated. After washing with water, the fish was split from the belly side along the backbone in a single piece and salted in 15% salt solution over night. The fish was then dried for 7 days in the open air. The parts taken as sample are shown in Table 2.

Table 2. The explanation of processed fish samples.*

Code	Name of product	Parts taken for analysis	Remarks
SDCE	Canned sardine	Solid portion** including meat, skin and bone	One can which contained 6 fishes was used for each sample.
SDCF		Meat	
MACE	Canned mackerel	Solid portion** including meat, skin and bone	Each sample was taken so as to contain all parts of one dressed fish.
MACF		Meat	
MACP		Muscle protein***	
SDSE	Salt-dried sardine	Whole body except head and tail	Five fishes were used for each sample.
SDSFS		Meat and skin	
SDSF		Meat	
MASFS	Salt-dried mackerel	Meat and skin	One fish was used for each sample.
MASF		Meat	
MASP		Muscle protein***	

* Materials were of the same lot as given in Table 1.

** The liquid portion was discarded by slanting the can for about 5 minutes.

*** The meat, from which connective tissues were removed as carefully as possible, was extracted with 80% aqueous alcohol and ether.

Beef, pork and chicken. These meats were obtained from a butcher near this labor-

atory. The parts used are given in Table 1. The fatty tissues were removed as carefully as possible.

Analytical method.

Preparation of sample. The materials were ground with a food chopper and partially dehydrated on a steam bath. They were then finely powdered, dried again over phosphorus pentoxide in a vacuum desiccator and completely defatted with ether by the Soxhlet apparatus.

For preparing the muscle protein, the meat, from which the connective tissues were removed as carefully as possible, was finely disintegrated in a homogenizer. Three hundred ml. of absolute ethyl alcohol were then added to 100 g. of the homogenized meat and stirred for 30 minutes on a magnetic stirrer. After filtering off, the precipitate was re-extracted twice with each 300 ml. portion of 80% (v/v) aqueous alcohol. The precipitated protein was collected by filtration, dried in a vacuum desiccator, and extracted with ether.

Hydrolysis. Hydrolysis with barium hydroxide was carried out according to the method reported by Greene and Black[10] and that with 4 N and 5 N sodium hydroxide by Kuiken et al.[11] and Stokes et al.[12], respectively.

Amino acids. DL- and L-tryptophans were obtained from the General Biochemicals, Inc., and commercially available amino acids of best quality were used for assay medium.

Microbiological analysis. Assay procedures were essentially the same as that described by Tamura et al.[13] and *Streptococcus faecalis* R was used as a test organism. The tubes were autoclaved at 10 pounds pressure for 10 minutes, inoculated and incubated at 37°C for 72 hours. The lactic acid produced was titrated with 0.05 N sodium hydroxide solution using the mixture of bromthymol blue and neutral red as indicator.

The standard curve was made over an assay range of 0 to 2.1 micrograms of L-tryptophan with 0.3 microgram increments. The determinations on samples were run in triplicate at three concentration levels and the tryptophan content was taken as the average of these nine determinations.

The recovery test was also made in triplicate at two concentration levels by adding L-tryptophan to hydrolyzates.

As it was confirmed that DL-tryptophan was microbiologically just one-half as potent as L-tryptophan, the values were corrected for racemization by multiplication of direct assay values by 2.

Ion exchange column chromatographic analysis. The chromatographic procedures were the same as that reported by Ishii[14] excepting that the effluents were collected in each 0.5 ml. portion by the automatic fraction collector of the drop-counting type and the tryptophan analysis was carried out according to the modified photometric ninhydrin method described by Yemm and Cocking.[15]

Proximate analysis. Moisture of the fresh, canned and salt-dried meats was determined using Radiation Moisture Balance* and that of powdered samples was estimated by heating at 105~110°C until constant weight was attained. Nitrogen was determined by the micro-KJELDAHL method and crude fat by the usual method.

Results and Discussion

All tryptophan values are calculated to 16 g. of nitrogen.

The recovery in the microbiological assay was satisfactory, ranging from 98 to 104%. In the column chromatographic assay, separation of tryptophan from the other amino acids was complete and the recoveries of pure tryptophan and that added to hydrolyzates were run with a great satisfaction, ranging from 98 to 101%.

(I) Some examinations on the method for determination of tryptophan.

In general, alkaline hydrolysis is required in advance of the determination of tryptophan in protein. However, it includes, as pointed out by SPIES and CHAMBERS,[18] some complicated problems. They demonstrated that hydrolysis of protein should not be used, because it may cause a partial destruction of tryptophan under the racemizing condition, and recommended the direct colorimetric method on the intact proteins. Their belief that the more accurate tryptophan value is obtainable on the intact protein than on the hydrolyzate is based upon the assumption that peptide-linked tryptophan gives the same color intensity as free one. It is almost impossible at the present, however, to substantiate this assumption. Therefore, the present experiments were designed to find the most suitable condition for hydrolysis of fish meat.

A test sample, the muscle protein of frigate mackerel, was hydrolyzed with barium hydroxide or 4 N sodium hydroxide for various lengths of time at 15 pounds pressure and tryptophan content of each hydrolyzate was determined microbiologically. As shown in Table 3, the highest value was obtained after 6 hours digestion with barium hydroxide and after 16 hours digestion with sodium hydroxide, respectively, and the value obtained after hydrolysis with barium hydroxide was considerably higher than that with sodium hydroxide.

KUIKEN et al.[11] reported that hydrolysis of proteins such as beef fibrin and casein with barium hydroxide gave higher value of tryptophan than with sodium hydroxide, although the reverse was the case in the hydrolysis of some foodstuffs. In the present study, however, all samples examined showed higher values of tryptophan after hydrolysis with barium hydroxide (Table 4). Hydrolysis with 5 N sodium hydroxide, which has been also used widely, was carried out at the same time to compare the present results with those in literatures. The results obtained were the same as that in 4 N sodium hydroxide digestion, giving lower values of tryptophan (Table 4).

* Manufactured by the Nihon Yakin Kagaku Kogyo Co., Ltd.

Table 3. Liberation of tryptophan from fish muscle protein* under various conditions.

Hydrolyzing agent	Time (hr.)	Tryptophan content** (%)
Ba $(OH)_2$	4	1.53
〃	6	1.57
〃	8	1.55
〃	10	1.54
〃	15	1.53
4N NaOH	8	1.26
〃	12	1.26
〃	16	1.27
〃	20	1.19

* The muscle protein of frigate mackerel was used.
By the microbiological method.

Table 4. Comparison of tryptophan values as hydrolyzed with barium hydroxide and sodium hydroxide.

Sample	Tryptophan content** (%)		
	Ba $(OH)_2$ 8 hrs.	4N NaOH 12 hrs.	5N NaOH 10 hrs.
Casein*	1.50	1.22	——
Mackerel, muscle protein	1.48	1.21	1.18
〃 , flesh	1.33	1.09	1.02
Canned mackerel, meat	1.35	1.10	1.10
Salt-dried mackerel, meat	1.35	1.08	1.12
Beef	1.28	0.99	——
Pork	1.25	1.00	1.07
Chicken	1.23	0.95	1.08

* Merck's Hammersten casein.
** By the microbiological method.

From these results, it seems reasonable to assume that the liberation of tryptophan from proteins by sodium hydroxide was incomplete or tryptophan in protein was partially destroyed under the condition. Although there remains, of course, some questions whether tryptophan in samples is completely set free without loss during barium hydroxide digestion, the hydrolyzing condition which gives the highest values may be preferable, provided that the condition does not include the occurrence of the interfering substance or incomplete racemization of tryptophan.

Furthermore, it has been known that the rate of racemization of free tryptophan during alkaline hydrolysis is slower than that of the amino acid in peptide linkage. Spies and Chambers[18], who studied the relation between racemization of free tryptophan and the heating temperature in 5 N sodium hydroxide showed that the rate of racemization amounted to 54.8 and 71.2% when L-tryptophan was heated at 124°C for 18 and 41 hours, respectively, and Wooley and Sebrell[19] demonstrated incomplete racemization of free tryptophan in sodium hydroxide hydrolysis. The present authors also experienced a abnormally high value over than 130% in the recovery experiment, in which added L-tryptophan was treated with 4 N sodium hydroxide and assayed microbiologically. This can be explained only by probable incomplete racemization.

After due consideration on these points, hydrolysis with barium hydroxide for 8 hours* at 15 pounds pressure was adopted, although it has the disadvantage that barium ions must be removed before assay of the hydrolyzates.

The results of recovery test were very satisfactory as shown in Table 5 and the values obtained by the microbiological and column chromatographic assay technics

* The time was chosen for fear of incomplete racemization of L-tryptophan,[10] although the 6 hours digestion gave the highest value (Table 3).

were in good agreement (Table 6). These results show that tryptophan was stable during the barium hydroxide digestion and almost complete racemization of L-tryptophan occurred during the treatment. It is also clear from the results that the higher values obtained in the microbiological assay after barium hydroxide digestion are not due to the occurrence of interfering substance(s) active for the test organism.

Table 5. Recovery of tryptophan after barium hydroxide digestion.

Sample	Tryptophan added (mg.)	Microbiological		Chromatographic	
		Found (mg.)	Recovery (%)	Found (mg.)	Recovery (%)
Control	L 5.00	5.24	104.8	4.85	97.0
〃	DL 6.00	5.85	97.5	——	——
Frigate mackerel, muscle protein	L 5.00	5.20	104.0	5.05	101.0
Striped marlin, muscle protein	DL 6.00	5.90	98.3	6.16	102.7
〃 flesh	DL 6.00	5.85	97.5	——	——

Table 6. Comparison of the microbiological and column chromatographic assay technics.

Sample	Tryptophan content* (%)	
	Microbiological	Chromatographic
Frigate mackerel, muscle protein	1.57	1.53
〃 , 〃	1.51	1.45
Striped marlin, muscle protein	1.46	1.50
Mackerel, flesh	1.33	1.26

* Barium hydroxide digestion.

To check the reproducibility of the results, the hydrolysis was repeated thrice on a given sample, the muscle protein of frigate mackerel, and satisfactory values, 1.55, 1.57 and 1.51 were obtained in the following microbiological assay of tryptophan.

The ion exchange column chromatographic method for the determination of amino acids has been considered to be of the most accuracy. By the present study, however, it was proved that the microbiological method, which is far more convenient for routine assay of many samples, is also applicable with a great satisfaction to the determination of tryptophan in fish meat. Hence this method was used to attain the present purpose.

(II) Tryptophan content of raw and processed fish meats.

The proximate composition and tryptophan content of each sample are shown in

Table 7, by which tryptophan content may be calculated on any desired basis.

Table 7. Proximate composition and tryptophan content of raw and processed fish meats.

Code	Sample*	Moisture (%)	On dry basis (%) Total–N	Crude fat	Total–N in defatted and dried sample (%)	Tryptophan content** (%)
SDRE	Sardine, edible portion	67.8	8.92	36.98	13.50	1.24
SDRFS	〃, flesh with skin	69.7	10.30	32.06	14.04	1.38
SDRF	〃, flesh	69.6	9.74	27.57	14.05	1.34
SDRP	〃, muscle protein	—	—	—	14.21	1.68
MARFS	Mackerel, flesh with skin	64.7	8.12	45.85	15.01	1.24
MARF	〃, flesh	63.0	7.77	47.20	14.60	1.33
MARP	〃, muscle protein	—	—	—	15.17	1.48
SRRFS	Saury, flesh with skin	58.2	7.56	48.32	15.10	1.27
SRRF	〃, flesh	59.2	8.17	43.39	14.47	1.35
SMRF	Striped marlin, flesh	77.2	14.87	1.18	15.15	1.25
SMRP	〃, muscle protein	—	—	—	15.88	1.46
BHRF	Bastard halibut, flesh	79.4	14.93	0.11	14.78	1.25
CORF	Cod, flesh	82.6	14.61	0.63	14.56	1.28
YTRF	Yellowfin tuna, flesh	74.1	14.88	0.07	15.16	1.30
SDCE	Canned sardine, solid portion	62.1	8.74	38.41	13.98	1.32
SDCF	〃, meat	66.8	10.39	20.94	14.23	1.46
MACE	Canned mackerel, solid portion	59.5	9.87	45.69	14.71	1.38
MACF	〃, meat	64.7	11.04	28.42	14.44	1.35
MACP	〃, muscle protein	—	—	—	15.62	1.52
SDSE	Salt-dried sardine, edible portion	52.2	7.73	27.15	10.36	1.09
SDSFS	〃, meat with skin	52.6	8.48	21.95	10.88	1.27
SDSF	〃, meat	52.5	9.84	13.84	11.56	1.38
MASFS	Salt-dried mackerel, meat with skin	50.3	6.41	41.49	12.15	1.27
MASF	〃, meat	53.9	7.52	25.64	11.46	1.35
MASP	〃, muscle protein	—	—	—	14.95	1.47
BERF	Beef, loin	60.3	7.78	50.53	14.75	1.28
PORF	Pork, loin	76.4	14.27	8.10	14.92	1.25
CHRF	Chicken, light meat	76.8	13.90	8.96	14.79	1.23

* The detailed explanations of the samples are given in Tables 1 and 2.

** The values are expressed as per cent of crude protein (N×6.25).

The amount of tryptophan in raw fish flesh ranged from 1.25 to 1.35% and revealed striking similarity throughout the species tested. These results support the view that the distribution of amino acids in the muscle protein of fish is relatively uniform irrespectively of species[5–9, 16].

Tryptophan in canned and salt-dried meats was almost at the same level as that in raw flesh, indicating that such processings as heating and salt-drying do not affect tryptophan in fish to any extent. These findings are also in close agreement with

those of other workers[16,17].

Tryptophan content of muscle protein, on the other hand, was considerably higher than that of flesh from which it was prepared. This may be explainable by the loss of non-protein nitrogen.

It is apparent that the tryptophan values in Table 7 are remarkably higher than the value (0.99%), which was given by ORR and WATT[4] as a mean value and used to evaluate the protein score of fish meat by the Resources Council of the Science and Technic Agency[1].

About one-half of data, which was collected by ORR and WATT was derived from reports published by NEILANDS et al.[16] and DUNN et al.,[20] who gave about 80 figures on the amount of tryptophan in raw and processed fish meats and stated that average tryptophan content of fish meat was 1.0, 1.0, 0.8, 1.0, 1.0, 0.9 and 1.0% for atlantic mackerel, pacific mackerel, atlantic sardine, pacific sardine, cod, salmon and tuna, respectively. These values are lower than those in this paper. The other half of the data used by ORR and WATT includes the figures which are abnormally low[21,22]. These low values may be attributable to the sodium hydroxide digestion, for, as shown in Table 4, hydrolysis of fish samples with this reagent gave the low values without exception.

The data cited by ORR and WATT include values on flesh with and without skin or bone together with those on muscle protein. The present authors, therefore, examined whether any difference of the amino acid content is observed among these samples. It seems that the presence of skin or bone reveals effect on the lowering of tryptophan content although a little. This point must be duly considered when the data on fish meat are compared with those on beef, pork and chicken, for some workers analyzed fish including the both skin and bone, while it is almost sure that such is not the case in the samples of livestock. In addition, when the tryptophan values found in the different literatures a compared with each other, it must be also taken into consideration that tryptophan content of muscle protein was considerably higher than that of flesh.

Although ORR and WATT described that the average tryptophan content of beef, pork or chicken is higher than that of fish meat, it was demonstrated by several workers,[7,16] who analyzed the fish and these domestic animals at the same time and by the same method, that the muscle tissues of these different classes of animal did not differ widely in their amino acid pattern. This fact was again confirmed by the present study as far as tryptophan is concerned.

It may be given as a conclusion that fish meat is as good as beef, pork or chicken in supplying the essential amino acid, tryptophan.

This leads one to expect that the protein score of fish meat is not only so low as stated in the report on the recommended dietary allowance for Japanese but also well comparable to that of beef, provided that the first limiting amino acid in these meats

is tryptophan[1]. Anyway, the new recommendation must be revised as soon as possible, as it exerts a great influence on the food policy in this country.

Summary

1. The barium hydroxide digestion gave the higher tryptophan value than the sodium hydroxide digestion.

2. The values obtained by the microbiological and chromatographic assay technic were in good agreement.

3. It was proved that tryptophan content of fish meat can be determined with a great satisfaction by the microbiological method after hydrolysis with barium hydroxide.

4. The amount of tryptophan in raw fish flesh ranged from 1.25 to 1.35% and variation among the species of fish was quite small.

5. Tryptophan content of canned and salt-dried fish meats was almost at the same level as that of raw meat.

6. Fish meat is as excellent as beef, pork or chicken in supplying tryptophan.

7. The recommended dietary allowance for Japanese made by the Resources Council of the Science and Technic Agency was criticized on the basis of these results.

The authors are indebted to Miss S. Tokuda for her valuable technical assistance.

References

1) The Resources Council of the Science and Technic Agency: "Report on the Recommended Dietary Allowance for Japanese" (1959).
2) Yoshimura, H. and Usami, S.: *Medicine and Biology*, **51**, 89 (1959).
3) Inagaki, C.: *J. Jap. Soc. Food and Nutrition*, **13**, 7 (1960).
4) Orr, M. L. and Watt, B. K.: "Amino Acid Content of Foods", U.S. Department of Agriculture (1955).
5) Matsuura, F., Kōnosu, S., Ota, R., Katori, S. and Tanaka, K.: *This journal*, **20**, 941 (1955).
6) Kōnosu, S., Katori, S., Ota, R., Eguchi, S. and Mori, T.: *Ibid.*, **21**, 1163 (1956).
7) Beach, E. F., Munks, B. and Robinson, A.: *J. Biol. Chem.*, **148**, 431 (1943)
8) Pottinger, S. R. and Baldwin, W. H.: *Com. Fish. Rev.*, **8**, No. 8, 5 (1946).
9) Connell, J. J. and Howgate, P. F.: *J. Sci. Food and Agric.*, **10**, 241 (1959).
10) Greene, R. D. and Black, A.: *J. Biol. Chem.*, **155**, 1 (1944).
11) Kuiken, K. A., Lyman, C. M. and Hale, F.: *Ibid.*, **171**, 551 (1947).
12) Stokes, J. L., Gunness, M., Dwyer, I. M. and Caswell, M. C.: *Ibid.*, **160**, 35 (1945).
13) Tamura, G., Tsunoda, T., Kirimura, J. and Miyazawa, S.: *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **26**, 464 (1952).
14) Ishii, S.: *J. Biochem.* (Japan), **43**, 531 (1956).
15) Yemm, E. W. and Cocking, E. C.: *Analyst*, **80**, 209 (1955).
16) Neilands, J. B., Sirny, R. J., Sohljell, I., Strong, F. M. and Elvehjem, C. A.: *J. Nutrition*, **39**, 187 (1949).
17) Proctor, B. E. and Lahiry, N. L.: *Food Research*, **21**, 91 (1956).
18) Spies, J. R. and Chambers, D. C.: *Anal. Chem.*, **21**, 1249 (1949).
19) Wooley, J. G. and Sebrell, W. H.: *J. Biol. Chem.*, **157**, 141 (1945).
20) Dunn, M. S., Camien, M. N., Eiduson, S. and Malin, R. B.: *J. Nutrition*, **39**, 177 (1949).
21) Master, F. and Magar, N. G.: *Ind. J. Med. Res.*, **42**, 509 (1954).
22) Sugimura, K., Taira, H., Hoshino, N., Ebisawa, H. and Nagahara, T.: *This journal*, **20**, 520 (1954).

綜 述

漁業養殖業生産高統計の変せんとその利用について

山 本 忠*

(1960 年 7 月 16 日受理)

I. 緒 言

日本の水産業に関する資源学的あるいは経済学的分析に当つては過去の農林省統計表あるいは農商務省統計表（以下農林統計という）が利用されることが多い。しかしながら，昭和 26 年4 月以降の農林省統計調査機構を通じた調査結果を除いて，それ以前の農林統計はきわめて信頼度の薄いものと見做されている。

最近著者等は大正元年以降の累年漁獲量を整理編さんする機会を得，その過程において必然的に過去における農林統計の変せんについても研究する機会に恵まれた。その結果，過去の農林統計でもその年代別変せんの概要を知つて，所要の修正を加えればかなりの程度にまで利用に耐えうることを知つた。

本稿においては，過去の農林統計を利用するためにはどのような点に留意すればよいかについて述べるとともに，著者等が過去の水産統計の中で特に見逃しえない程の大きな誤りについては所要の修正を試みたのでその概要を記述し大方諸賢の参考に供することとした。

II. 漁業養殖業生産高統計略史

農林統計に現われた水産業の生産高統計を大きな年代別に分けると，明治 3 年から同 26 年までの**前期**，明治 27 年から昭和 26 年までの**中期**，および昭和 27 年以降の**後期**に大別される。

前期の特長は漁獲量調査というよりも水産加工生産高調査が主体をなし，したがつてこの期の調査結果は生物学的利用には役立てることができない。

中期に入つてようやく魚種別生産量調査の体系を整えたが，この期においても大正15年までは日本全国の生産量を調査するというよりは，むしろ日本全体の総生産金額を求めることに主眼が置かれていたようである。したがつて，大正 15 年までの農林統計ではニシン，イワシ‥‥等の具体的魚種については数量，金額（価額）がともに調査されているが，魚類，貝類，その他の水産動物，藻類のそれぞれの「その他」はいずれも金額のみしか調査されていない。そのためこの時代の統計表の全国総数の欄は金額しか掲載されていない。

前期，中期を通じて調査は原則として農林省 → 府県庁 → 市町村の調査組織で年一回調査せられ，府県別調査結果は当該府県に居住する者の漁獲高が計上されている。(昭和 24～26 年は例外で後述参照)

昭和 27 年以降の**後期**の調査はすべて農林省統計機構（農林省統計調査部→農林省府県統計調査事務所→同出張所）によつて調査されている。前期，中期の調査は単に年一回の調査であつたというだけでなく，府県調査機構の水産の専門でない担当職員によつて調査されたのに反し，後期では水産専任の職員（事務所約 275 名，出張所約 800 名）で調査されているから調査方法の改善と相まつて調査精度において相当の開きがあるであろうことはいうまでもない。

前期，中期の水産統計調査は水産統計が単独で年代別に改編されたのではなく，農業，林業，畜産業（農商務省の時代には商工業を含む）も含めてそれらの調査内容改正と同時に何年か置きに改正されている。しかし，後期に入つて農林統計調査機構が確立されるにおよんで，水産統計調査は他の諸調査とは独立に設計せられ，年を逐つて飛躍的な改正が加えられた。よつて III 部門別水産統計概説（海面漁業，浅海養殖，内水面漁業，内水面養殖等）に入る前に，主として前期，中期の調査が年代別に調査制度上どの程度に改編が

* 農林省統計調査部水産統計課

加えられたかを概観して置こう。すなわち，部門別水産統計を利用する場合に以下で述べる年代史を頭に画く必要があるからである。

（1） **前期時代** （明治 3 年～同 26 年）

すでに述べたように，この時代の水産統計調査は水産加工に限定せられていたので，漁業養殖業生産高統計としては利用し得ないが，以下参考までに年代別調査名称および担当官庁名を掲げて置く。

1) 明治3年～同4年
府県管内物産取調　民部省

2) 明治5年～同6年
府県管内物産取調　大蔵省

3) 明治7年～同9年
物産調査　内務省

4) 明治 10 年～同 16 年
明治 10 年 8 月 11 日内務省乙第 72 号達内務省

5) 明治 17 年～同 19 年
明治 16 年 12 月 28 日農商務省達第 21 号農商務通信規則　農商務省
（注） 明治 14 年 4 月農商務省が設置せられ，明治 17 年分がはじめて第一次農商務統計表として刊行された。

6) 明治 20 年～同 22 年
明治 19 年 3 月 5 日農商務省令第 1 号農商務通信手続および事項

7) 明治 23 年～同 26 年
明治 22 年 4 月 17 日農商務省訓令第 26 号

○特記すべき事項（水産特別調査）

この年代は原則として漁業養殖業の生産高調査は行なわれなかつたが，明治 25 年農商務省訓令第 33 号により水産特別調査が実施せられ，明治 24 年を対象として鹹水産 128 種，淡水産 31 種に分類した魚種別数量，金額が調査されている。

（2） **中期時代** （明治 27 年～昭和 26 年）

漁業生産高統計としてようやく利用しうる時代となるが，魚種別生産量が主体をなし，漁業別生産量は遠洋漁業のような特殊統計表でしか求められていない。また大正時代までは総生産量を求めるというより総生産金額を求めることに主体が置かれていた（細部は Ⅲ 参照）。

1) 明治 27 年～同 31 年
明治 27 年 3 月 30 日農商務省訓令第 14 号農商務統計様式（北海道，府県共調査対象となつている）

2) 明治 32 年～同 37 年
イ. 明治 32 年 7 月 4 日農商務省訓令第 34 号農商務統計様式
この訓令は北海道を除く府県を調査対象とした。
ロ. 明治 32 年 12 月 22 日内務省訓令第 38 号
この訓令は北海道のみを調査対象とした。

3) 明治 38 年～同 41 年
明治 37 年 9 月 30 日農商務省訓令第 11 号農商務統計様式
北海道，府県ともに再び農商務省の調査に統一された。

4) 明治 42 年～大正 3 年
明治 41 年 12 月 7 日農商務省訓令第 33 号農商務統計様式

5) 大正 4 年～同 10 年
大正 3 年 11 月 21 日農商務省訓令第 13 号農商務統計様式

6) 大正 11 年～同 14 年

大正 10 年 6 月 28 日農商務省訓令第 19 号農商務統計報告規則

大正10年までの調査は訓令によつて各種調査の報告様式が定められたに過ぎなかつたが，大正11年からはじめて農商務統計に関する規則が制定せられ，市町村の区域を調査区に分け，これに調査員を設置して調査に従事せしめ，この調査結果を市町村長が農商務統計様式によつて地方長官に報告し，地方長官は更にこれを取りまとめて農商務大臣に報告するよう規定せられた。

併しこのことは規則によつて明文化されただけであつて，大正 10 年までの調査においてもほぼこれと同様の調査が行なわれていたものと考えられる。

7) 大正 15 年～昭和 15 年

大正 14 年 12 月 28 日農林省令第 25 号農林省統計報告規則

大正 14 年 4 月農商務省は農林省と商工省に分割された。したがつて，大正13年分を第1次として農林省統計表が刊行されるようになつた。

8) 昭和 16 年～同 23 年

昭和 15 年 12 月 28 日農林省令第 111 号農林水産業調査規則

この規則は昭和4年4月法律第 53 号資源調査法により制定された。なお，資源調査法は昭和 22 年 3 月 26 日法律第 18 号統計法の制定に伴い廃止されたが，同法第 22 条の規定により農林水産業調査規則は昭和 23 年まで暫定的に効力を延長された。

（3） **後期時代** （昭和 27 年以降）

昭和 22 年に農林省に作物報告調査組織（現在の農林統計調査機構）が設置せられ，従来の農林畜水産業を綜合した調査から，農業，林業，畜産業，水産業の各部門別に漸進的に調査が整備されるようになつた。その第一歩として主要農作物の生産高調査が昭和 22 年から標本調査により開始されたが，水産関係の生産高調査は予算等の都合もあつて，昭和 27 年から全国調査が軌道に乗せられた。なお，水産業に関する生産高調査はその重要度の高い海面漁業から整備がなされ，浅海養殖，内水面漁業養殖については海面漁業よりかなり遅れて改善が図られた。

III. 部門別水産統計概説

（1） 外地出漁

外地出漁とは第2次世界大戦までの日本の植民地または露領沿海州に日本の本土（農商務省または農林省が管轄した地域）に居住する漁業者が出漁して行つた漁業の総称である。

農林省統計表では露領出漁，朝鮮，関東州，台湾，南洋諸島に分けて掲載しているが，露領出漁を除いては総漁獲量のみで，魚種別の記載がない。また関東州は大正3年まで，朝鮮は大正 11 年までは金額のみで数量が調査されていない。

露領出漁のサケマス漁獲数量は当時の水産局が露領水産組合を通して集めた統計で，現地では尾数で調査されたが，農林統計では石単位で掲載されている，これを重量に換算した統計書が数種刊行されているが，換算率がそれぞれ若干ずつ異つているため，それぞれやや異つた結果が得られている。筆者等は水産庁関係者とも協議し，現在最善と考えられる換算率を使用して重量換算を行い，その結果を漁獲量累年統計表[9]に掲載している。

（2） 外洋漁業

1．露領根拠を除いた北洋漁業（母船式サケマス，カニ漁業），2．南支那海トロール式曳網漁業，3．本邦根拠を除いたマグロ延縄漁業，4．アラフラ海白蝶貝採取業の総称で，つぎに述べる一般海面漁業とはやや異質なため農林統計ではこれらを戦後特に外洋漁業と仮称している。外洋漁業の中で戦前から該当のあるものは母船式サケマス，カニ漁業，アラフラ海白蝶貝採取業，南支那海トロールであるが，戦前の南支那海トロールの漁獲統計は農林統計に掲載されていない。

ここでも，母船式サケマス漁業の漁獲量は農林統計では尾数でしか掲載されていない。よつて筆者等は前記露領漁業の場合と同様に水産庁関係者と協議し現在最善と考えられる1尾平均重量を用いて重量換算し，これを漁獲量累年統計表[9]に掲載している。母船式サケマス漁業以外の外洋漁業は利用上それほど混乱を起すものが少ないのでここでは記述を省略する。

（3） 一般海面漁業

捕鯨業，外洋漁業を除いた海面漁業で，通常日本の本土から出漁し，その漁獲物を日本の本土に直接水揚する漁業をいう。

農林統計を利用する場合に，前記 (1) 外地出漁，(2) 外洋漁業は年代別にいずれも独立した統計表として掲載されているので，利用上大きな不便を感じない。しかし，それ以外の漁業の生産高統計は現行のように一般海面漁業，浅海養殖，内水面漁業，内水面養殖に明確に分離されていないので利用上注意を要する。

昭和 23 年までの農林統計から現行の一般海面漁業の漁獲量を見ようとするためには農林統計の中の (1) 漁獲物（大正 15 年以降沿岸漁獲物），(2) 遠洋漁業の「内地沖合」（大正 11 年以降「内地沖合遠洋漁業」）および (3) 遠洋漁業の6「汽船トロール漁業」（大正 15 年以降遠洋漁業の9）の三つの統計表をプールして読表する必要がある。これらの統計表はⅡ略史で述べた年代毎に若干づつ変更が加えられているので，利用に当つてはつぎの点に留意する必要がある。

（i） 漁獲物（沿岸漁獲物）

イ. 昭和 15 年までの沿岸漁獲物とはつぎの (ii) 遠洋漁業以外の漁業をいうと規定されている。

ロ. 明治 27 年から昭和 15 年までの農林統計では漁獲物（または沿岸漁獲物）の名称で掲載され，昭和 16 年から遠洋漁業の1と合併し，総漁獲高（昭和 16 年），漁業漁獲高（昭和17～23年），海面漁業漁獲高（和昭 24～26 年），一般海面漁業（昭和27年以降）となつている。この統計表はわが国海面漁業の骨幹をなす統計である。

ハ. 魚種別のみ調査されている。ただし，昭和 16 年以降大雑把な漁業分類（現行の中分類程度）が加えられた。

ニ. 明治 27 年から大正 14 年までは「その他の魚類」，「その他の貝類」，「その他の水産動物」，「その他の藻類」は金額しか調査されていない。

ホ. 明治 27 年から昭和 23 年までは内水面漁業の漁獲量が沿岸漁獲物（昭和 16 年以降総漁獲高または漁業漁獲高）に含まれている。

ヘ. 明治 38 年から大正 10 年までは，水産養殖（浅海，内水面養殖とも）の生産量が沿岸漁獲物に含まれている。

ト. 明治 27 年から同 42 年までは，北海道の漁獲量は生売したものしか調査されていない（この漁獲量は統計表の末尾に付記してある）。したがつて，この期間の農林統計からは全国総漁獲量はもちろん，北海道の魚種別漁獲量も利用できない。この時代に北海道が生売のみを調べたのは，当時の北海道では漁獲物を鮮魚として販売せず加工品とするものが多かつたので特に両者を区別して調査しにくかつたためである。このような北海道の特殊扱いは北海道の漁獲量が全国の 30% 前後を占めていたであろうことからして，明治時代の農林統計の利用価値を半減せしめている。

チ. 昭和 24～同 26 年の海面漁業漁獲量は当時水産庁が地方庁水産主務課から報告させた漁獲月報（地方庁水産課は漁協から申告させた）の結果が用いてある。これは昭和 23 年までの府県機構を通じた表式調査から現行の農林統計機構による月別調査に切り替わる過渡期であつたため，農林省統計調査機構による調査が行なわれなかつたためである。ただし，農林省統計調査機構による調査は実際には昭和 26 年 4 月から開始されたが同年1～3 月の調査が行なわれていないので，農林省統計表では昭和 26 年分も上記漁獲月報の結果を代用している。なお，昭和 26 年 4 月～同 27 年 3 月の農林省統計機構による調査結果は昭和 26 年海面漁業漁獲量統計表に掲載されている。

リ. 昭和 27 年以降は完全な農林統計機構による調査で，昭和 28 年以降は漁獲量の外に漁業種類別に

着業統数，航海数が漁船の屯数規模別にも調査されるようになつたから水産資源研究には格段の利用度を高めている。

(ii) **内地沖合（内地沖合遠洋漁業）**

イ．農林統計には明治 32 年から昭和 15 年まで掲載されているが，大正 3 年までは金額しか調査されていない。

ロ．大正 4 年以降魚種別には数量金額が調査されているが，「その他」については金額しか調査されていない。ただし，大正 11 年からは「その他」も数量が調査されている。

ハ．大正 3 年までは遠洋漁業の定義が明確でない。大正 4 年以降「遠洋漁業奨励法により奨励金を受ける船舶ならびに総屯数 5 トン以上の船舶を以つて行なつた漁業」と明瞭に定義されているので，前記 (i) 漁獲物（沿岸漁獲物）は概ね 5 トン未満の漁船によつて漁獲された生産量と見なすことができる。

ニ．大正 4 年以降の漁業分類は昭和 15 年まで余り変更されていないので，漁業分類が大雑把ではあるがその累年比較が可能である。

(iii) **汽船トロール**

イ．大正 4 年までは遠洋漁業の 1 に含まれているが金額の調査しかない。

ロ．大正 5 年～昭和 23 年は農林統計では汽船トロールとして別掲せられ，前記「漁獲物」あるいは「内地沖合遠洋漁業」の統計表には重複していない。その後昭和 24～26 年も引続き掲載されているが，その漁獲量は (i) で述べた海面漁業漁獲高（水産庁漁獲月報による）に含まれている。

(4) **内水面漁業**

昭和 23 年までは前記 (3) の「沿岸漁獲物」に含まれ，内水面漁業として独立した統計表が掲載されていない。利用上特記すべき事項はつぎの通りである。

イ．明治 27 年～昭和 23 年までは前記 (3) (i) の沿岸漁獲物に含まれているが，アユ，コイ，ウナギ，ワカサギ等の淡水性魚類の分類がなされているので，これらの魚種についてはほぼ内水面漁業による漁獲量として利用できよう。

ロ．昭和 16 年～同 23 年は漁業漁獲高の統計表（前記 (3) の (i) ロ，ハ参照）の中で漁業分類の一つとして内水面漁業が掲げられたので内水面漁業の総生産量を知ることができる。

ハ．昭和24年から農林省統計機構による調査となり，はじめて内水面漁業の統計表が掲載されているが，藻類の漁獲物のうち非食用をどの程度まで調査するか明確に定義してなかつたので昭和 31 年までの藻類漁獲量は漁家（主として湖沼沿岸の）が自家用肥料に供したものまで調査されその数量が大きいので内水面漁業の年次別総漁獲量を大きく左右している。したがつて，この期間の内水面漁業の年次別漁獲量を見ようとする場合は藻類の漁獲量を除外して利用した方がよい。

(5) **水産養殖（浅海養殖，内水面養殖）**

昭和 23 年までの水産養殖は浅海養殖と内水面養殖とに分離されていないのでここでは両者をまとめて記述する。利用上特記すべき事項はつぎの通りである。

イ．明治 32 年から調査が開始され，昭和 23 年までは水産養殖（昭和 16 年～同 21 年は水産増殖と名付けられている）として調査されているが，収獲量は魚種別に掲載されているので，浅海養殖と内水面養殖とは分離して読表できる。

ロ．昭和 16 年～同 21 年の農林統計を利用する時最も注意を要することは，農林水産業調査規則に基いた調査結果（農林省官房統計課→地方庁統計主管課）と，水産局長，官房統計課長連名地方長官あて通達「水産増殖事業の調査報告に関する件」に基いた調査結果（地方庁水産主務課が調査を担当した）とが「水産増殖」なる統計表の中に併載されている。後者（地方庁水産主務課で調査された）は当時の水産増殖補助金による効果判定を見ようとしたもので，前者（地方庁統計課→市町村で調査された）の内のりと見做すべきものである。したがつて，この時代の農林統計から水産養殖を見ようとする場合は前者の結果（昭和 16，17 年の農林統計では水産増殖のその一からその五まで，昭和 18～21 年のそれで

は水産増殖の (1), (2), (3) のみを利用すべきである。

ハ．アサリは明治 42 年から，ハマグリは昭和16年から水産養殖の調査対象として調査されている。（ハマグリは昭和 15 年までは水産養殖の調査対象に入つていない）他方「沿岸漁獲物」でもアサリは明治 42 年から，ハマグリは明治 27 年から分類して調査されている。したがつて，アサリは明治 42 年からハマグリは昭和 16 年から両者の統計表のそれぞれの数量を加えればアサリ，ハマグリの総生産量を知ることができるはずである。しかしながらアサリ，ハマグリの養殖は元来養殖方法がきわめて消極的であるため現地調査に当つて天然産と養殖産とに明確に識別が困難であるため既住の調査結果を見ると，年によつて漁業またわ養殖えの計上の仕方が区々となつている。よつて，両者の統計表にアサリ，ハマグリを掲載することは利用上返つて混乱を起すので昭和 29 年からはカキを除く貝類の養殖収獲量は養殖程度のいかんを問わず浅海養殖の調査対象外とし海面漁業の調査に含められている。

ニ．昭和 27 年までノリは生重量，カキは殻付重量，真珠は個数で調査されている。昭和 28 年からはこれらの統計の実用的利用を考慮して，ノリは生重量の外に枚数を，カキは殻付重量の外に剝身重量を調査するよう改められている。真珠は昭和 28，29 年の調査は一時中断せられ，昭和 30 年から浜揚重量が調査されるようになつたので，昭和 27 年以前の統計と連続して読表することはできない。

ホ．内水面養殖のコイ，ウナギは明治 32 年から，ボラは明治 38 年から，マスは明治 42 年から分離して調査され途中の年次で中断されていないので長期間の年変動を知ることができる。

ヘ．水田養魚は明治38年から調査されその統計は明瞭に分離して掲載されているので利用が容易である。また，観賞魚（金魚，色鯉）は昭和5年から調査されている。

IV．主として表式議査時代の調査誤り

昭和 23 年以前の表式調査の調査結果は一般に調査誤りが多く特にその結果は過少であろうと見做されている。しかし，筆者等は大正元年以降の累年漁獲量統計を整理した結果，つぎのような点に留意して利用すればかなり利用に耐え得るものであることを知つた。

（1） 調査対象の規定

昭和 23 年までの沿岸漁獲物，内地沖合遠洋漁業，水産養殖はそれらの調査対象の規定が前記 Ⅲ の中で述べたように余り明確でない。また時代によつてはすでに述べた通り水産養殖が沿岸漁獲物に含まれたり，「その他」が金額でしか調査されていないのでこれらの総数を使用する時は注意を要する。

（2） 漁獲量の定義

調査に当つて，最も重要な漁獲量の定義が沿岸漁獲物を除いてはほとんど与えられていない。沿岸漁獲物のみは漁獲量の定義が年代別につぎの通り規定されている。

1) 明治 27 年〜同 37 年

何方にて漁獲されたかを問わず，当該府県所属漁民の漁獲したもののすべてをいう。

2) 明治 38 年〜同 41 年

水揚したる生鮮のまま，またわ僅かに素乾等の加工をなしたるまま消費するもの，および製造原料に供するものをいう。貝類は殻付のまま，コンブ，テングサは採取のままのもの，およびその水分を除却するため乾燥したるもの，フノリは漉フノリの原料たるものをいう。（ただし，北海道は生売のもののみ）

3) 明治 42 年〜大正 3 年

北海道の総漁獲量が調査されるようになつた以外は，上記 2) の定義に同じ。

4) 大正 4 年〜同 14 年

水揚したる漁獲物の総額，ただし藻額は水分を除去したる数量，貝類は殻付

5) 昭和元年〜同 15 年

漁獲物は水揚を為したるものの総額，藻類は水を切りたる時の数量，貝類は殻付

6) 昭和 16 年〜同 23 年

漁獲物は水揚を為したるものの数量を計上するものとし，藻類は水揚の時の生の数量，貝類は殻付のままの数量

7) 昭和 24 年～同 26 年（水産庁漁獲月報）

定義されたものを発見し得ないが，この時代は漁業用石油が漁獲物の出荷にリンクして配給されたので，リンクの対象となつた魚類，その他の水産動物，および貝類は比較的完全に報告されたが，リンクの対象とならなかつた藻類は申告洩れが相当あつたと推定される。

8) 昭和 27 年以降

漁業によつて漁獲されたすべての数量をいい，魚類，その他の水産動物，藻類は陸揚されたときの重量，貝類は殻付の重量

以上の定義を通覧すると，各年代を通して魚類，その他の水産動物，貝類はほぼ一定の定義（生重量）で調査されているが，藻類の定義は必ずしも現行のように陸揚されたときの生重量とは考えられず，またその水揚販売の形態からして漁業者が乾してから販売したものが確実に生に換算されて調査されたとも断定できない。また，北海道は明治 42 年以降すべての漁獲量が調査されたことになつているが，明治 41 年までの生売のみを調査した慣行が明治 42 年以降の調査においても部分的に継続されたのではないかと疑われる節がある。

農林統計とは別に，北海道庁ではその水産業の重要性からかなり信頼のおけるニシンの統計が得られている。これを農林統計の数字と比較すると相当大きな開きがあり，道庁のニシン統計は農林統計のニシンの加工品生産量を生換算した数字と比較的よく合致するので，筆者等がとりまとめた累年漁獲量統計表[9]ではニシンについては大幅な修正を行つている。

（3） 調査方法に起因する調査洩れ

昭和 23 年までの調査は原則として年1回（昭和 16～23 年は2回）の調査である。一般には海藻類のように周年生産が継続されるものを年1回だけ調査したことのため調査洩れが大きかつたのではないかと見做されている。しかしながら，漁獲物は腐敗性の早い商品であるため通常流通過程に乗せるために便利のよい漁港に集中的に水揚される傾向がある。現行の調査によると全国で 3,000 余の沿海漁業協同組合のうちで 50 余りの大漁港に総漁獲量の半数は水揚されている。漁業が余り機械化されていなかつた昔時においても現在程ではないが，このような傾向は多分にあつたであろう。そして常識的に考えて漁業の盛んな漁港では調査に比較的よく関心が払われてそれ程大きな調査洩れはなかつたと推定され，その反面多数の小漁村において調査洩れが相当あつたとしてもそれは調査洩れが相当あつたとしてもそれは調査洩れの発生件数が多かつたというだけで，総漁獲量それ自身を大幅に動かす程のものではなかつたと考えられる。

なお，昭和 23 年までの表式調査，昭和 24～26 年の漁獲月報調査，昭和 27 年以降の農林統計機構による月別調査を通じた統計の連続性については別報したい。

（4） 魚種識別上の誤り

表式調査時代の誤差は数量そのものの調査洩れよりも，この時代の市町村役場の調査担当者が水産統計専門の職員でなかつたことに起因した魚種識別上の誤りが多い。たとえば，ホタテ貝，コンブのような寒流系統の漁獲物が九州や瀬戸内海の諸県で計上されているがごときである。このような誤りは多くの場合方言からきたものと考えられるから，もし九州でホタテ貝として調査されていれば，それはたとえば板屋貝の誤りと解釈することができ，農林統計に掲げられた当該県の当該魚種の数量そのものは事実無根のものではない筈である。

（5） 調査時の単位誤り

表式調査時代の数量の単位は原則として貫である。しかし，現地調査に当つては現地の計量単位が石，尾，，箱，籠，斤等となつていることが多い。このような計量単位を貫数に換算する時の単位誤りや，換算を忘れてそのまま貫単位の調査用紙に記入して報告されたものが，集計過程のいずれの段階でも看過されてそのまま農林統計に公表されたような事例がかなりある。かかる誤りも前記 (3) で述べた単なる調査洩れ以上に

当該府県の総漁獲量はもちろんその年次の全国漁獲量に誤差をおよぼしている。このような調査誤りは同一魚種について全国また県別に年次別累年比較をすれば容易に発見できる。漁獲量累年統計表[9]ではこの種の誤りの大きなものは原則として当該県の当該魚種の前年の数字を代用することによつて修正している。

V. 戦後の漁獲統計と今後の在り方

海面漁業の漁獲統計は昭和 26 年4月農林省統計機構を通じて開始されてからつぎの三期に分れて改正されている。

昭和 26 年4月から同 27 年末までは，調査方法において月別調査ならびに標本調査が導入されたが，調査内容は正確な漁獲数量（漁業別，魚種別）を求めることに主眼が置かれ，漁獲努力量の調査が行なわれていない。

昭和 28 年から広義の漁獲努力量として漁業別に着業統数，航海数が漁獲数量の外に加えられ，分類指標としても漁業別，魚種別の外に漁業規模別（主として漁船の屯数別）が加えられたので調査結果は水産資源研究との結び付を深めた。

昭和 32 年から漁獲努力量として更に出漁日数が加えられた。また，上記2期の県別統計は県別属地統計（漁船の経営者の所属県を問わず漁獲物の水揚された県でまとめた統計）であつたが，この年から県別属人統計（漁獲物の水揚先県のいかんを問わず漁船の経営者の所属する県でまとめた統計）が求められるようになつた。

浅海養殖は昭和 28 年頃から漸進的に改善が加えられ，収獲量の外に経営体数，養殖施設数，種苗販売量が調査されるようになつた。

内水面漁業，養殖業の改正は更に遅れ，昭和 32 年に致つてようやくその体系を整えた。すなわち，同年から内水面漁業では漁業者数，孵化放流量が漁獲量の外に求められるようになり，内水面養殖では収獲量の外に経営体数，養殖場数，同面積，従事者数，種苗販売量が調査されるようになつた。

戦後の漁獲統計は以上のような改善が加えられたが，昭和 36 年からは更につぎの3点について改善するよう検討が進められている。

（1） 主要漁業の漁揚別統計を作成すること。

この計画はすでに昭和 26 年当時にも企図されたが，諸種の事情で挫折していた。昭和 36 年からは差し当り行政的にも資源研究的にも重要なマグロ延縄，中型機船底びき網，まき網，サケマス流網，延縄漁業について実施することが検討されている。

（2） 漁獲金額を求めること。

昭和 14 年までは数量，金額ともに調査されていたが，水産物の統制により金額調査は廃止され今日に至つている。水産資源研究は究極では水産経済とつながる問題であるから，漁獲金額調査を再開することは当然のことであろう。

（3） 漁業協同組合地域別統計を整備すること。

この統計は従来も取りまとめているが，県別統計のように一般に印刷公表すべき性格のものではない。しかし最近資源研究はもちろんその他各種の利用に供せられるようになつてきているので，その取りまとめ内容を更に整備し必要に応じ利用に供しようとするものである。

VI. 結　　語

以上，特に第二次世界大戦までの漁業養殖業生産高統計の変せんと利用について要約したが，紙面の制約もあつて意を尽していないところも多い。またこれらの記述は主として各年代の調査規則，調査様式，調査要綱，通達ならびに農林省統計表の注記等の諸記録を綜合したもので，当時の調査担当者がほとんど生存しないので若干の誤りもあるかも知れないことをお断りしておく。

ここに述べたことを整理して過去の農林統計の年次別総漁獲量を修正した結果は別図の通りである。農林

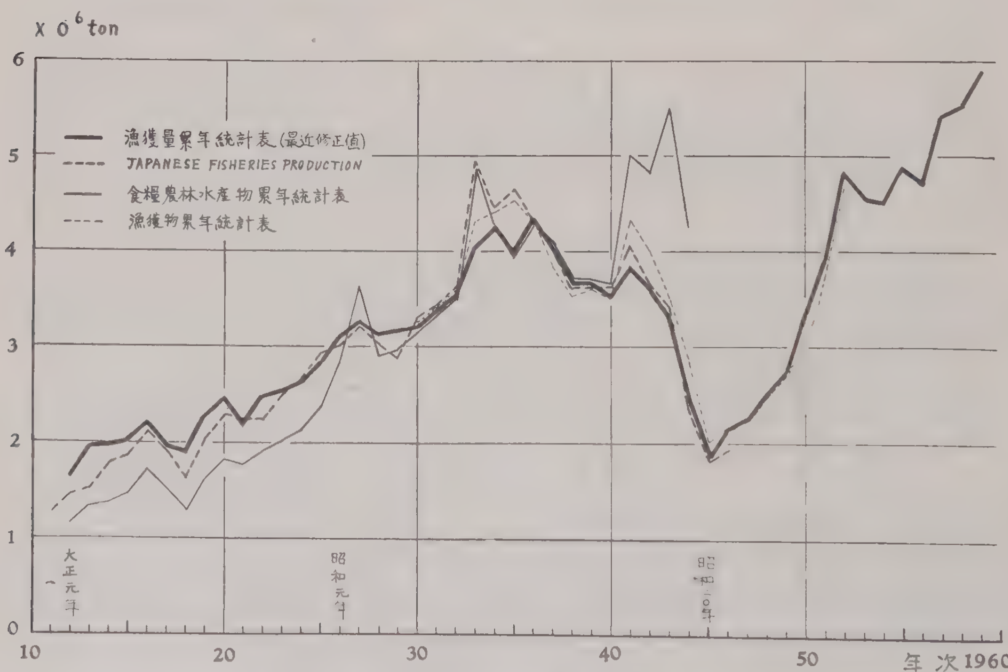
統計の変せんを十分に知悉しないで整理した既刊の幾つかの累年統計[3)-8)]とかなり大きな差があることに気付くであろう。修正結果の詳細はすべて漁獲量累年統計表[9)]に掲載されている。

漁獲量累年統計表の編さんに当り終始熱心にお手伝い頂いた農林省統計調査部水産統計課小林哲，舛用卓男（以上海面漁業ならびに綜合取りまとめ），菊地晃（浅海養殖担当），高橋正一（内水面漁業担当）の諸氏ならびに終始有益な御指導を頂いた水産統計課長北原恒造の諸氏に深甚の謝意を表する。

なお，水産統計史の更に詳細については別途刊行を予定される農林水産統計史を参考とされたい。

文　　献

1) 第1次～第 40 次農商務省統計表.
2) 第1次～第 35 次農林省統計表.
3) 農林省累年統計表： 農林大臣官房統計課 (1932).
4) 食糧農林水産物累年表： 農林省総務局統計課 (1946).
5) JAPANESE FISHERIES PRODUCTION 1908-46: N. R. S., G. H. Q. Report No. 95 (1947).
6) 漁獲物累年統計表： 水産庁調査研究部調査資料課 (1950).
7) 〃 〃 (1954).
8) 農林省累年統計表： 農林省統計調査部 (1955).
9) 漁獲量累年統計表： 農林省統計調査部 (1960).



別 図　各種累計年統計の総漁獲量の年次比較（鯨を除く）
Total Amount of Newly Revised Catch Comparing with those of the Previous Data.

抄　　録

Wingra 湖におけるコイの標識放流試験　J. C. NEERS, etc: *J. Wildlife Managment.* **21** (3), (1957).　Wingaa 湖（アメリカ）のコイが濫獲されているので，'53～'55 にかけて，コイ（*Cyprinus carpio*）の標識放流が行なわれ，漁獲統計と合せて資源の測定が行なわれた。試験漁具は 3～5 インチの網目で長さ 15 フィートの曳網である。標識放流に関しつぎの点があらかじめ調べられた。1) 標識の種類による漁獲率：標識は年によつてマークする部位が異なり，'53 年には背びれの尖端と尾びれの 2/3 のところを切り，'54 年には尻びれの左右が切られ，'55 年には胸びれが切られた。しかし，マークの位置による漁獲率，死亡率の差は認められなかつた。2) 古い標識の発見率：マークされた部分は年々再生されるが，このためマークが見分けにくくなることはなかつた。3) 標識魚の再漁獲率：一度マークされた魚は漁獲されやすいことが認められたが，この点については重視しなかつた。4) 標識魚の移動性：標識魚は自由に移動し，無標識魚と自由に混合すること，また放流地点は移動に影響しないことが確かめられた。これらの点を考慮して，自然死亡率および追加率が計算されたが，平均自然死亡率は 11～2 月の冬期は月当り 0.06，夏期は 0.04 であり，追加率はきわめて低いことが分つた。（井上）

英国における漁具の分類　F. M. DAVIS: *Fish. Invest.* **21** (8), (1958).　F. M. DAVIS によれば，英国の漁具はつぎのように分類されている。**I.** 固定漁具 Fixed Instruments（一時的に，また恒久的に固定されたもの）：a. Complete Barriers（垣網，身網を備えたもの），b. Guiding Barriers（干建網），c. Eel set Nets（返しのない細かい目の袋網），d. Filter Nets（流れに固定され，漁獲物を沪過する），e. Basket Nets（Filter Net のように作用するカゴ網），f. Fixed Gill Nets and Tangle Nets（沪底刺網），g. Trammels（三重刺網）. **II.** 流動漁具 Drift Nets（刺網で，普通，船ないし浮標により固定され風潮に対し自由に動く）. **III.** 運用漁具 Movable Drag Nets（人間の労力のみで，または風や機械力が加わり曳つぱることにより魚を集める網具）：a. Seiners（網の一部にあるいは全部が閉じるようになつた平面ないしその変形した網，海岸または船に曳かれる），b. Drage and Shank Nets, c. Beam Trawls, d. Otter Trawls, e. Pelagic or Floating Trawls（1 ないし 2 隻で種々の水深を曳くトロール，浮曳網）. **IV.** 餌付漁具 Baited Traps. a. Pots（返しのない餌付陥穿装置），b. Baited Hoop Nets（油底に set された円錐の袋で，海面まで持ち上げられる），c. Hand-Lines（手釣具），d. Long-Lines（延縄漁具）. **V.** 雑漁具 Man-Power Instruments（一般に一人の人間で操作され，上記の各項に該当しないもの）。（井上）

養殖物および飼育池におけるサケ・マス魚類の寄生虫病　G. K. PETRUSHEBSKII: *Vopr. Ixtiol,* **10** 162～171 (1958).　*Chlaromyxum truttae* が養殖池のマスに寄生して胆のうを犯し黄疸症を惹起する。肝臓は灰色を呈し腸管は炎症を示す。本病は 70% におよぶ斃死率を示す流行病であるが，池の消毒，魚の選別，卵，稚魚の運搬時に病理学者の監理を受けることになつて防除される。*Zschokkolla nova* マス類では稀有種である。*Myxosoma cerebralis*，ニジマスに寄生して鰓蓋の不全発育，尾部の彎曲を記す。骨組織，筋肉，肝臓，胆のう，消化管などにも寄生するので魚はやせる。池の消毒を行ない 12～14 月の稚魚に注意する。*Costia necatrix*，レニングラード地区の養鯉場に流行した甲状腺ガンと併発して本虫による疾病が 60% におよぶ被害を出した。またラドガ湖産のサケ稚魚に著しい損耗が生じ，養殖技術の改善を余儀なくされた。*Chilodonella cyprini*，流行病の一つとして越冬鯉仔に見られる外に，マス稚魚にも多大の被害を与え，その斃死率は 40% におよぶ。治療処置として過マンガン酸カリ水浴が効果的である。その他，原虫では *Trichodina domerguei*, *Ichtyophthirius multifiliis* の病害が著しく広大な水域に対する効果的な処置が未解決となつている。また吸虫では *Crepidostomum forionis*, *Diplostomulum spathaceum*，絛虫では *Cyathocephalus truncatus*, *Triaenophorus nodulosus*, *Eubothrium crassum*, *Diphyllobothrium latum*, *Proteocephalus neglectus*, *P. longicollis*，有鈎虫では *Neoechinorphynchus rutili*, *Acanthocephalus anguillae*, *Echinorhynchus clavula*，線虫では *Camallanus lacustris*，魚ビルでは *Piscicola geometra* などによる主として天然産のサケ・マスに軽視できない病害が述べられている。サケ・マスの寄生虫相は全部で 27 種，そのうち野生魚に 14 種，養殖魚に 20 種が寄生し 8 種が共通種である。（佐野）

炭水化物および蛋白質の微量定量法　G. HALLIWELL: *Biochem. J.*, **74** (3), 457～62 (1960).　炭水化物，蛋白質の定量法として，重クロム酸カリの濃硫酸溶液による酸化を用いた。一種のヨード測定による微量法が記述されている。

過剰の試薬に澱粉ヨード溶液を添加し，青色の強さを比色的に測定する。微量の $K_2Cr_2O_7$ を測定するため，ヨードは不安定な KI よりも CdI_2 を用いた。試料としてはグルコース，シュークロース，セロビオース，可溶性澱粉，結晶ペプシンおよびトリプシン，牛の血漿アルブミン，Bacto-ペプトン，トリプトンで，前四者はグルコースの標準曲線で測定できる。

この方法は炭水化物，蛋白質 9〜40 μg を検出でき，セロビオースの回収率は 9 μg で 99%（97〜101%），41 μg で 101%（99〜103%），可溶性澱粉 9 μg で 96%（95〜99%），32 μg で 98%（97〜100%）であり，微量の炭水化物，蛋白質，あるいはそれらの酵素その他による分解物分別操作中の純度試験，またはそれらのクロマトグラフ溶出物の分析を行うのに適当である。

本実験では，これを不溶解性のセルローズが Myrothecium verrucaria から得られる酵素により溶解性の生成物に分解されるのを抑制する条件を調べる目的に適用した。（大竹）

過沃素化合物による Betaine その他の第4級窒素化合物の分光学的定量法 J.S. Wall, D.D. Christianson, R.J. Dimler and F.R. Senti: *Anal. Chem.*, **32**, 870 (1960). Choline の定量をその過沃素化合物の ethylene dichloride 溶液における紫外部吸収によつて行なう Appleton らの方法を carnithine, betaine, γ-butyrobetaine, stachydrine, tetramethylammonium 等の第4級窒素化合物にも適用し得ることを確め，イオン交換クロマトグラフィにより分離された多量の試料を迅速に処理し得るように改良するとともに，この反応における I_2 の濃度，2, 3 の陰イオン，温度および時間の影響について報告している。定量法は 12 ml 容の沈澱管に 1 N H_2SO_4 または 1〜6 N HCl に溶解した試料 0.5 ml（10〜100 γ の第4級窒素化合物を含む）を入れ，0°C〜4°C に冷却した後 0.2 ml の KI-I_2 液を加え混合する。沃過素化合物の結晶が充分生成したならば遠心分離し，上澄液を除いた後，沈澱を 5.0 または 10.0 ml の ethylene dichloride に溶解する。365 mμ における吸光度を分光光度計により測定して，別に作成した標準曲線と比較することにより算出する。KI-I_2 液は 15.7 g の I_2 を 20 g の KI とともに 100 ml に溶解したものが最も適当である。carnithine, betaine 等は過沃度化合物の溶解度が大きいので沈澱を分離するまではつとめて低温に保つ必要がある。本法を玉蜀黍抽出液のイオン交換クロマトグラフィにより分別した試料につき適用した結果では特にこれらの窒素化合物の定量を阻害するようなものは見出されなかつた。（伊藤）

硬骨魚間腎組織のコルチコステロイド産生 J. Nandi and H.A. Bern: *Endoclinology*. **66**, 295〜303 (1960). 硬骨魚の間腎組織は哺乳類の副腎皮質に相当するものと考えられているが，実際にこの組織が副腎皮質ホルモンを分泌すると思われる結果が得られた。これまで，Hatey (1954) 以来，数人の研究者により魚類血液中にコルチコステロイドが存在することが証明されてきたが，これらはいずれも間腎に由来するという直接の証明とはならないものであつた。最近，Phillips and Mulrow (1959) がコイ科の *Fundulus heterolitus* の間腎組織を含む頭腎部位が progesterone を cortisol, cortisone, aldosterone 等へ（*in vitro*）変換することを認めたが，これは間腎組織に副腎皮質組織特有の酵素が存在することの直接証明の最初であつた。

Incubation: NaCl 200.0 mm/l, KCl 5.0, $CaCl_2$ 3.0, $MgCl_2$ 2.0, $NaHCO_3$ 1.0, NaH_2PO_4 10.0, glucose 6.0 の組成の濃 stock solution を調製，用時魚類血液と等滲透圧に水で稀釈したものを medium とし，この中に頭腎（間腎組織を包含）を incubate（medium と酵素を 30 分毎に更新，室温 1 時間半）。Extraction: 各 medium と組織を 2 容の ethylacetate で 3 回抽出，0.05 N Na_2CO_3 と水で順次洗滌後低圧下 ethylacetate を溜去，残渣を水：*n*-hexane 間の partition で精製，水層から ethylacetate で 3 回再抽出，乾燥。chromatography: これを 50 μl 無水 methanol に溶解，Whatman ♯20 を用い toluene-75% methanol 系で展開，triphenyltetrazolium chloride (TPTZ) で発色，標準と対比。別に cyclohexane-benzene-methanol-water (100: 50: 100: 25) 系で展開後 2 N-NaOH を噴霧，紫外線下の螢光を検索。

ギンダラ（*Anoplopoma fimbria*）17 尾供試し cortisol，ボラ（*Mugil cephalus*）47 尾を供試し cortisol と cortisone，カワスズメ（*Tilapia mossambica*）129 尾供試し cortisone と未確認の corticosterone を検出。ただしキツベラ（*Bondianus bilunulatus*）は TPTZ 法でも，soda-fluorescence 法でも検出されなかつた。これは供試頭腎に共存せる腎細管によるステロイドの conjugation が原因と推定される。

また供試した種類が少ないために棲息場所や分類上の位置との相関々係は不明なるも，同一 species では棲息場所と関係が無いようだ。すなわち，淡水適応と海水適応の両 Tilapia のいずれもが主要成分の分泌像が同じであつた。ただし分泌容量は海水適応のものの方がやや大きいようだ。（石原）

自働酸化したラード中のポーラログラフ性還元性物質の生成 E.J. Kuta and F.W. Quackenbush: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **37** (3), 148〜151 (1960). 溶剤に抑制剤としてエチルセルローズを添加すると，酸化した油脂のポーラログラムは，E 1/2 = −0.15 v. の還元波 (A) はほとんど変りないが，E 1/2 = −0.7 v. のものは −0.68 v. (B) と −1.10 v. (C) の二つの波に分離する。ラードを送気法により低温（55°C.）と高温（100°C.）で酸化させ，これら三つの還元性物質の時間による変化を，相当する半波電位における拡散電流値から得た曲線は，いずれも沃素滴定法による過酸化物の変化と大体一致したが，曲線 (A) は (B), (C) のいずれよりも早く最大に達した。酸化促進剤として Cu^{++}，クロロフィル，高濃度のトコフェロールをそれぞれ加えると，これらの曲線はけわしくなる。酸化防止剤（カテコール）と増強剤（クエン酸，リン酸，アスコルビン酸）を添加すると試料の誘導期間を延長

するが，還元性物質の形成や蓄積をほとんど変化させない。したがつて自動酸化したラードは，少くとも三つの型の過酸化物タイプの化合物を含んでおりこれらは酸化促進剤や防止剤の存在によつて定性的に変化されない。これら三つの還元波で代表される個々の過酸化物の構造は，(C) がヒドロパーオキサイドであろうと思われるほかは確認できなかつた。（外山）

油焼けした食品に含まれる malonaldehyde の蒸溜法による定量 B.G. Tarladgis, B.M. Watts and M.T. Younathan: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **37** (1), 44～48 (1960). 食品中の油脂の酸化程度を判定するために蒸溜による malonaldehyde の定量を他の方法と比較検討し，TBA test の確立をはかつた。方法としては試料肉または TEP 標準物質 (1, 1, 3, 3-tetra-ethoxypropane，加水分解により malonaldehyde を生ずる）を水とともに細切し，HCl 酸性でキルダール蒸溜装置にかけ，溜出液について TBA test を実施する。蒸溜条件を検討した結果，pH 1.5, 10 min. で 50 ml の溜出液を得ることが最も適当で，その間における試料油脂の酸化もおこらない。溜出液は表面に油状物質を分離するが，定量にはほとんど影響しない。溜出液またはTEP と TBA との呈色は加熱時間とともに増大するが，35 分をすぎるとその勾配はゆるやかになる。溜出液は室温で 24 hrs. 保存できるが，呈色後であれば optical density が 10% 増加する。濃度既知のTEP から蒸溜による malonaldehyde の平均回収率は 68% であつた。定量の結果は TBA number (mg. malonaldehyde/1000g. sample) で表示され吸光度に恒数 *K*（計算式により算出）を乗じて得られるが，TEP を標準とすることにより，測定値の比較が可能となる。酸化防止剤処理をした豚肉と対照についてパネル test と本法を比較した結果，かなり高い相関関係が得られた。（外山）

照射殺菌した牛肉の TBA test N. L. Smith, I.J. Tinsley and E.C. Bubl: *Food Technol.*, **14** (7), 317～320 (1960). γ 線照射した牛肉について TBA と反応して強い赤色を呈する成分をクロマトで分離精製したのち，さらにペーパークロマトにかけて最大吸収が 534mμ のもの（I）と 552 mμ のもの (II)の二つを分離した。Rf 値および最大吸収により（I）は TBA-malonaldehyde 反応生成物に一致し，(II) は TBA-glyoxal 反応生成物の一方に一致することを認めた。これら色素前駆体の性質を追究するために $CHCl_3$ と H_2O を使用して系統的抽出を行なうとともに，流水による透折の影響等を検討した結果，呈色前駆体の 25～30% が $CHCl_3$ 可溶性 (1) であり，30～35% が水溶性の形 (2) であるが，(2)の大部分はリン脂質態のもので $CHCl_3$ にも可溶性であるらしく，(1), (2) 以外のものは不溶性の結合態であるが，透析もしくは $CCl_3 \cdot COOH$ による還流で解放されるとの結論を得た。このほか，照射肉中にglyoxal 形成の可能性について考察を加えている。（外山）

円口類 Petromyzon planeri の発育過程中のヘモグロビン像 M. Adinolfi, G. Chieffi, M. Siniscalco: *Nature*, 184, 1325 (1959). 1958 年 4～5 月にかけて Napoli の Sarno 河で採集した試料の血液を澱粉ゲル電気泳動によつて分析すると，稚魚も成魚も二成分のみ存在するが，稚魚のヘモグロビンの各成分は成魚のそれに比較してかなり大きな易動度を示した。さらに稚魚においては各成分の量比は大体同程度であつたが，成魚では易動度の大きい成分がはるかに少なかつた。1～3 月に採集した試料では 3～4 成分を有するものがあつた。この時期は丁度変態の季節であり，この様相を呈しているものでは明らかに 3～4 成分を有するものが多かつた。4～5 月の終り頃天然に見出される魚はすべて成魚または稚魚でヘモグロビンも二成分以上は存在しない。更に時がたつと性腺の成熟した魚は産卵の後死んでしまい ammocoetes のみが残存し，これはつぎの冬まで稚魚のヘモグロビン像を示す。このヘモグロビン像の変化が生理的に重要なものであり，変態や性的成熟と関連があるだろうということは考えられるが，しかし変態の際には形態的，生理的変化の外に生態的にも変化することには注意する必要がある。現段階では成魚と稚魚のヘモグロビンの性質が異なる意義については未解決である。なお Sarno 河の 129 尾の ammocoetes にも，102 尾の成魚にもヘモグロビンの多様性が遺伝的であるという確認は未だ得られていない。*P. planeri* と近縁の *P. fluviatilis* の成魚のヘモグロビン像は *P. planeri* の成魚のそれによく似ている。（金光）

孵化直後の鯉の生残率におよぼす酵母およびビタミン B 群の影響 B.C. Das: *Can. J. Biochem. Physiol.*, 38, 453～458 (1960). 酵母 (**I**)，ビタミン B_{12} (**II**)，硝酸コバルト (**III**)，および山羊の胃内容物の搾出液 (**IV**)，を孵化直後から 2 週間インド鯉 (*Catla catla*, *Laebo roluta* および *Cirrhina mrigala* の三種）の飼育水に加え，稚魚の生残率におよぼすこれらの物質の影響をしらべた。54 個の陶器製バット（9*l* 容）を 1 群 9 個として 6 群にわけ，飼育水 9*l* 当りつぎのように上記試料を添加した。第 1 群，**I**, 0.324g; 第 2 群，**II**, 25μg; 第 3 群，**III**, 1γ; 第 4 群，**IV**, 10 ml; 第 5 群，**III**, 1γ および **IV**, 10 ml; 第 6 群，対照。実験期間中 Daphnia を餌として充分あたえ，水は毎日サイフォンでとりかえた。2 週間後の生残率は酵母を加えた第 1 群が最もよく 89% で，第 5 群がこれにつぎ 84%，第 4 群 83%，ビタミン B_{12} を加えた第 2 群は 75% であつた。一方対照群は 65% で 1% の信頼限界で試料添加群との間に有意の差がみられた。またビタミン B_1 10 mg，B_2 3 mg，B_6 塩酸塩 15 mg，ニコチン酸アミド 15 mg およびパントテン酸カルシウム 3 mg を飼育水に加えた例では，生残率は 77%

で対照群よりあきらかに高かつたが，第1群にくらべるとその効果は少なかつた。このような酵母およびビタミンB群の作用は孵化直後から3日目位までにあらわれ，対照群は3日目に 70% に減少したが酵母を添加した場合には 90% に減少したにすぎなかつた。(岡市)

凍結乾燥したタラ筋肉エキスの褐変反応時における遊離アミノ酸および糖の消失　N. R. Jones: *Food Research*, **24**, 704～710 (1959). 氷蔵日数を異にした小タラの凍結乾燥製品の褐変反応時における遊離アミノ酸および糖の関与様式を研究した。褐変反応には肉蛋白質分子中のアミノ基よりもエキス区分の夫が一層関与することから，小タラ筋肉を75% エタノールで抽出し，その抽出液にクロロホルムを加えてよく振つて上層の蛋白質不含の筋肉エキスを得，これを試料とした。このエキスを凍結乾燥して後，硫酸一水の入つた容器中に入れて関係湿度を 60% に保つとともに 40°C で3日間保存して褐変させた。後これを 75% エタノールに溶かし，430mμ で褐変度を測定し，同時にアミノ酸，遊離糖量を定量して三者の関係を求めた。その結果，新鮮な試料肉または氷蔵 1～3 日の極く新しいうちは，褐変度が各試料毎にまちまちで広くちらばり一定の傾向は示さなかつた。しかし氷蔵 5～12 日のものでは貯蔵日数とともにその褐変度も増加する傾向が見られた。アミノ酸はほとんどのものが褐変後減少しその減少率は初めの濃度に関係なくおよそ 40～60% であつた。また褐変度が高いときに特定のアミノ酸の反応前の濃度が高いとか，またはその消失量が特に著しいというような事実は認められなかつた。一方遊離糖は Glucose と Ribose であるが，Ribose は従来報告されている含量よりも遙かに低く，しかも生鮮時にはほとんど含まれていなくて，氷蔵後多少鮮度低下したものに検出された。褐変は少量の糖の消失と，これと 1: 1 モル比反応によつて期待されるよりもはるかに多量のアミノ酸の消失を伴なつて起つた。新鮮なタラの筋肉エキスの褐変においては Glucose が，不鮮筋肉の褐変時には Ribose が Limiting factor であることを認めた。(太田)

脂質酸化に対する肉色素の影響　M. T. Younathan and B. M. Watts: *Food Research*, **24**, 728～734 (1959). 豚肉ハム製品の貯蔵時における脂質酸化とそれに伴う風味の悪変化について検討し更に脂質の酸化に対する肉のハム色素の触媒作用を追究してつぎの諸点を明らかにしている。

A一塩漬しない肉の製品では迅速に脂肪の酸化が起るが，これにトリポリりん酸ソーダを加えると酸化が防止される。また通常の工程で得られる塩漬肉 (2% NaCl－0.02% $NaNO_2$ 添加) 製品では，特に抗酸化剤を加えなくても約2週間は酸化が起きなかつた。

B一肉色素の変化と脂肪の酸化との関係を確めるため，試料肉を (1)対照 (無塩)，(2) 2% NaCl 添加，(3) 0.02% $NaNO_2$ 添加，(4) 2% NaCl－0.02% $NaNO_2$ 添加のように処理して製品をつくつて試験した。その結果，加熱製品の肉色素は(1)，(2)は不安定で変色するが，(3)，(4)はともに発色した。しかしその安定さは (4) が最も高く 15 日間貯蔵してもほとんど褪色しなかつた。また (3) は一旦発色するが，24 時間後急速に褪色し，5日後には褐灰色に変色した。肉色素の安定な (4) では脂肪の酸化もなかつた。以上 A，B 両実験結果から塩漬け処理しない肉の肉色素は加熱によつて第二鉄ヘモクロモーゲンを生成し，これが不飽和脂肪酸の酸化に対して活性触媒となることが認められた。塩漬け肉 (NaCl-$NaNO_2$) では肉色素はピンクの第一鉄ニトロソヘモクロモーゲンとして存在し，これは脂肪の酸化に対する触媒活性を示さなかつた。(太田)

凍結挽肉に対する抗酸化剤の効果　H. M. Caldwell, M. A. Glidden, G. G. Kelley and M. Mangel: *Food Research*, **25**, 139～144 (1960).

挽き肉 (牛) 600g に Na-Ascorbate, NDGA, EDTA, Na-Citrate, Dihydroxyquercetin 等5種類の抗酸化剤を各 1.8g 宛または Na-Ascorbate 1.8g に他の 1.8g の混合したものを加えてよく混和して 50g 宛をポリエチレンテレフタレートフィルムで包み，さらにこれをアルミホイルで包んで −23°C で凍結保存し，2，4，6 週目のものについて，色，香気を官能検査で決め，肉色素の変化を 450mμ～650mμ における吸収スペクトルから吟味し，脂肪の酸敗度を Turner の方法により測定した TBA 値によつて比較して，上記抗酸化剤の効果を検討した。対照と Na-Ascorbate 添加試料はいずれも生鮮状態では還元ミオグロビンの典型的な吸収スペクトルを与えるが，凍結によつて徐々に変化し，対照の解凍試料は Na-Ascorbate 添加試料よりも速かに変色してメトミオグロビン特有の吸収スペクトルを与えた。Na-Ascorbate 添加試料はメトミオグロビンの存在を明らかに示すようなスペクトルは与えなかつた。

Na-Citrate, EDTA, NDGA および Dihydroxyquercetin を単用した試料はいずれも速かにメトミオグロビンを生成し，色沢も貯蔵2週間までは良好であるが4週間で不良化した。なお，これらのものに Na-Ascorbate を混用した試料は比較的良好であつたが，Na-Ascorbate 単用のものにはおよばなかつた。

香気は NDGA 単用のものまたは NDGA-Na-Ascorbate 混用のものともによくなかつたが，他のものは一応 “満足” と評定された。

なお試料肉は予め脂肪組織を取り除いたことと，貯蔵日数が比較的短かかつたゆえか，酸敗していなかつた。(太田)

雑　　録

昭和 35 年度文部省科学研究費について

文部省科学研究費等分科審議会委員
一般　松江吉行・化学　橋本芳郎

文部省科学研究費のうち水産関係では下記の通り採択が決定致しましたのでお報らせします。

原則として総合研究は3年，試験研究は2年，各個研究は1年です。総合研究と試験研究については多少その内容を紹介するため研究分担者と課題名をあげましたが，申請書によりましたので実施計画とは異なるところがあるかも知れません。この点御了承下さい。

1　昭和 35 年度申請ならびに採択課題件数

		申請件数	採択件数	決定額合計 万円
総合研究		10	4（新規 2，継 2）	380
試験研究		33	13（2年継続 7 本年限り 6）	700
各個研究	一般	197	20（A 14．B 6）	321
	化学	139	16（A 11．B 5）	256
	計	336	36（A 25．B 11）	577

2　総合研究

「海中懸濁物に関する研究」代表者　北大　井上直一　（75 万円，3年目）

井上直一(北大)：濁度測定法と懸濁物拡散機構に関する研究
辻田時美(西海水研)：海中における有機懸濁物の自然発生と海の生産過程の地域的特徴の研究
花岡　資(広大)：水域別にみた微細海中懸濁物質の物理・化学的特性に関する研究
坂井　稔(北大)：海中懸濁物分解過程における細菌学的研究
石川俊夫(北大)：海中無機懸濁粒子の定性，定量的研究

「軟体動物エキスに関する研究」代表者　東北大　土屋靖彦　（90 万円，2年目）

鴻巣章二(東大)：軟体動物エキスのアミノ酸
麓　禎康(神戸大)：軟体動物エキスのオクトピン
三宅正人(三重大)：軟体動物エキスのビタミンB群
斎藤恒行(北大)：軟体動物エキスの核酸成分
小野豊樹(東水大)：貝類エキス成分と酵素作用
清水　亘(京大)：軟体動物エキス成分と味
浅野元一(東北大)：軟体動物エキスの有毒成分
土屋靖彦(東北大)：軟体動物エキスの加工化学的研究

「魚介類に起因する原因不明食中毒に関する研究」代表者　東水大　関根　隆　（90 万円，新規）

関根　隆(東水大)：総括および中毒原因の微生物学的研究
浅野元一(東北大)：毒性物質の分離および性状（特に介類）
河端俊治(予研)：中毒原因物質の分離および性状ならびに中毒発生状況調査
橋本芳郎(東大)：餌料生物の毒物学的研究

松江吉行(東大)： 魚類の生理，生態と毒化の関連性に関する研究
相磯和嘉(千葉大腐敗研)： 中毒原因の衛生微生物学的研究
柳沢文徳(東京医科歯科大)： 魚介類中毒の医学的殊に公衆衛生学的研究

「日本周辺における深海生物の綜合的研究」 代表者 東大 末広恭雄 (125 万円，海洋別枠よりの 50 万円を含む，新規)

末広恭雄・岩井英次(東大)： 深海における游泳動物の分類生態および生理に関する研究
岡田弥一郎(三重大)： 深海魚の分類学的および形態組織学的研究
堀越増与(御茶の水大)： 深海における底棲動物の分類および生態に関する研究
熊凝武晴・石野 誠(東水大)： 深海生物の採集法に関する研究
丸茂隆三(気象庁)： 深層水の指標プランクトンの研究
松江吉行・小牧勇蔵(東大)： 深海性マクロプランクトンの生態学的研究
多賀信夫(東大)： 深海性海洋細菌の生理，生態学的研究

3 試 験 研 究

「小型歯鯨の資源生態学とその応用に関する研究」 代表者 三重大 岡田弥一郎 (45 万円，新規)

岡田弥一郎(三重大)： 胎児および発生
吉原友吉(東水大)： 資源量の変動
西脇昌治(鯨研)： 社会構造の解明とこれに基づく資源保護対策
日比谷 京(東大)： 性的成熟度
神谷敏郎( )： 聴覚と群行動
水江一弘(長大)： 食性および食害

「用水処理による魚貝類の生産力増強法」 代表者 東大 佐伯有常 (54 万円，継続)

稲葉伝三郎(東水大)： 養魚池水の沪過と通気による生産増加に関する研究
中村中六(東大)： 養鰻池水の沪過とその効果に関する研究
江草周三(東大)： 沪過循環方式の水族寄生体防除効果
橋本芳郎(東大)： イオン交換樹脂による用水浄化法
佐伯有常(東大)： 用水処理法の水質学的検討
有馬 啓(東大)： 沪過槽の能率向上に関する菌学的研究

「魚貝類の有毒化の経路および機構に関する研究」 代表者 東大 松江吉行 (58 万円，新規)

松江吉行(東大)： 水を通しての毒化機構
橋本芳郎(東大)： 餌を通しての毒化機構
河端俊治(予研)： 有毒物質の生化学的研究
浅野元一(東北大)： 軟体動物の毒化機構
保田正人(長大)： 重金属の生態系物質代謝機構と毒性化との関連

「河川管理を主とした鮭資源維持の試験研究」 代表者 東北大 佐藤隆平 (45 万円，継続)

佐藤隆平(東北大)： 総括ならびに親魚の産卵および稚魚の降海の保護の試験
奥津春生(東北大)： 河床および水量の改善の試験
白石芳一(淡水研)： 害敵生物の駆除の試験

「南極航海時における海鷹丸採集生物の総合調査研究」 代表者 東水大 妹尾次郎 (50 万円，新規)

海老名謙一(東水大)： 海鷹丸採集魚類の調査研究
滝 巌(広大)： 同上軟体動物の調査研究
松江吉行(東大)： 同上浮游生物の調査研究
岩佐正夫(成蹊大)： 同上腔腸動物，瑞脚目等の調査研究

妹尾次郎(東水大)： 海鷹丸採集魚類の浮游生物の一部，その他無脊椎動物の調査研究

「海産養殖用種苗に関する研究」 代表者 広大 日下部台次郎 (50 万円，新規)

日下部台次郎(広大)： 瀬戸内海における海産増殖用種苗に関する研究 附，袋待網，薄手繰網に混獲される稚魚に関する研究

水江一弘(長大)： 長崎県を中心とする九州地方における海産養殖用種苗に関する調査研究 附，胎生魚の稚魚の飼育に関する研究

原田輝雄(近畿大)： 和歌山県を中心とする海産養殖用種苗に関する研究 附，養殖用種苗の輸送方法改良に関する研究

「水質汚濁による斃死魚の死因判定に関する研究」 代表者 東北大 狩谷貞二 (48 万円，新規，ただし1年限り)

狩谷貞二(東北大)： 有機試薬による死因判定について

村地四郎(広大)： 死亡魚の臨床的知見

津田 勉(東北大)： 有機試薬による水質判定法について

狩谷貞二・芳賀克子(東北大)： 有機試薬利用による工場廃水調査

「魚類血液学の水産への応用に関する研究」 代表者 北大 小林新二郎 (55 万円，新規)

(1) 生理状態などの判定

小林新二郎・結城了伍(北大)： 血球組成および血液凝固反応

保科利一・佐野徳夫(東水大)： 養殖魚の血液性状

日比谷 京(東大)： 血液中色素および血液像

村地四郎(広大)： 眼底部血管所見

田村 修(長大)： ヘモグロビンおよび酸素の量的変動

(2) 種族の判別

末広恭雄(東大)： サケ，マス類，サバなど

鈴木秋果(南水研)： マグロ類

藤野和男(鯨研)： 鯨類

「魚群の誘導駆集に関する研究」 代表者 東水大 熊凝武晴 (60 万円，継続)

熊凝武晴・佐々木幸康・波多野 浩・鈴木 裕(東水大)： 光による魚群の誘導に関する実験

近藤 仁・宝谷英生・宮崎芳夫(東水大)： 気泡幕による魚群の誘導に関する実験

神田献二・小池 篤(東水大)： 網漁具の魚群に対する誘導効果に関する基礎実験

今村 豊・井上 実・小倉道男(東水大)： 餌料による誘導

「浅海漁場用観測ロボットの試作研究」 代表者 広大 松平康雄 (50 万円，新規，ただし1年限り)

松平康雄(広大)： 研究全般の指揮統轄

小山治行(広大)・上野福三(三重大)： 感知部の基礎試験，機器設計と工作監督，現場テスト

小林省巳： 機器設計，工作上の諸問題

「北洋産魚類（特にタラ・カレイ類）の利用に関する研究」 代表者 北大 谷川英一 (65 万円，新規)

谷川英一(北大)： 北洋産魚類（特にタラ・カレイ類）の塩蔵ならびに乾燥時における肉質の変化

清水 亘(京大)： 北洋産魚類（特にタラ・カレイ類）の腐敗性と煉製品原料としての利用

松浦文雄(東大)： 北洋産魚類（特にタラ・カレイ類）の肉蛋白ならびにエキスのアミノ酸組成

高橋豊雄(東水研)： 北洋産魚類（特にタラ・カレイ類）の利用に関する組織学的研究

岡田 稔(東水研)： 北洋産魚類（特にタラ・カレイ類）のねり製品原料としての適性判定およびその改善

「抗生物質による漁獲物の鮮度保持に関する試験研究」 代表者 九大 富山哲夫 (63 万円，新規)

富山哲夫・米 康夫(九大)： 微量抗生物質の連続投与による腸内における耐性菌の出現，耐性菌出現

　　が鮮度保持におよぼす影響
　富山哲夫(九大)：　耐性菌による腐敗度の判定法
　銭谷武平(長大)：　耐性菌出現が鮮度保持におよぼす影響
　柿本大壱(鹿大)：　同　　上
　片山輝久(広大)：　耐性菌による腐敗度の判定法
　福田搏業(宮崎大)：　抗生物質による初期鮮度低下の防止
「抹香鯨肉の自己消化とその利用」 代表者　理化学研　小島善久　　(57 万円，継続)
　小島善久(理化学研)：　鯨肉の自己消化および各種蛋白分解酵素による加水分解に関する研究
　日下部実男・片山敏子(理化学研)：　鯨肉のエキス中の窒素成分に関する研究
　西山誠二郎(理化学研)：　呈味および品質におよぼす金属錯塩の研究
　服部行彦(理化学研)：　鯨肉の蒸煮および菌体利用の研究

4 各個研究

○印はB研究，( )内は金額，単位万円

A 水産一般

「北海道太平洋岸における底魚類の群集生態学的研究」 北大　浜井生三　(20)
「北洋水域における幼稚魚の研究」 北大　佐藤信一　(20)
「養鱒における乾燥飼料給与の基礎研究」 東北大　佐藤隆平　(20)
「スズキの成長と食物消費に関する実験的研究」 東北大　°関野清成　(5)
「水産動物の生残と調整現象に関する研究」 東大　大島泰雄　(22)
「チップ実験による水産資源数理の基礎的研究」 東大　°能勢幸雄　(5)
「網糸の疲労に関する研究」 東水大　本多勝司　(22)
「ニジマスのビブリオ病菌に関する研究」 東水大　保科利一　(15)
「魚網附属品の力学的研究」 京大　川上太左英　(25)
「病態魚類の診断技法に関する研究」 広大　村地四郎　(20)
「再吸収理論によるあこや貝卵抜き技術の研究」 高知大　°八塚　剛　(6)
「Littoral copepodaの研究」 九大　田中於菟彦　(20)
「沿岸における重要魚類の資源生物学的研究」 九大　°三尾真一　(5)
「魚類呼吸の生理学的研究―II　呼吸能力と生理，環境，諸条件との関係」 長大　田村　修　(21)
「沿岸および内湾水域の付着性および底棲性の餌料生物に関する群集生態学的研究」 長大　入江春彦　(19)
「定置網の改良に関する研究」 鹿大　金森政治　(20)
「たまみじんこの増殖に関する研究」 鹿大　村山三郎　(20)
「アサクサノリの発芽に関する研究」 三重大　瀬木紀男　(25)
「マグロ漁業におけるシャチ食害に関する調査研究」 東海大　°岩下光男　(5)
「水槽内における各種環境条件の研究」 日大　°出口吉昭　(6)

B 水産化学

「Marine bacteria に関する研究」 北大　坂井　稔　(22)
「血合筋における酸可溶性核酸成分の変化に関する研究」 北大　斎藤恒行　(24)
「魚類肝臓の完全利用に関する研究」 東北大　奏　満夫　(23)
「イソメの有毒成分に関する研究」 東大　橋本芳郎　(29)
「サケ・マス類のカロチノイド色素に関する研究」 東大　°金光庸俊　(5)
「放射線の水産動物生体成分におよぼす影響」 東水大　°菊地武昭　(5)
「魚肉の褐変に関与する糖成分に関する研究」 東水大　小野豊樹　(28)
「水産物における油脂酸化防止剤の適用性の検討」 東水大　°外山健三　(6)

「魚類筋肉の蛋白組成」 京大 清水 亘 (18)
「魚肉腐敗細菌のチラミン生成作用」 京大 °河合 章 (5)
「海藻の揮発成分に関する化学的研究」 広大 片山輝久 (16)
「水産物に含まれるクロルテトラサイクリンの定量法」 九大 富山哲夫 (22)
「イルカ類油脂の研究」 長大 福原忠信 (16)
「魚体酵素の分離精製に関する研究」 宮大 °福田博業 (5)
「自然水中におけるビタミン B_{12} の循環に関する研究」 鹿大 柏田研一 (16)
「魚類の内臓より養魚飼料の製造」 三重大 立野新光 (16)

○ 9月理事会

日　時　9 月 20 日 14 時
場　所　東水大会議室
出席者　会長以下 21 名
議　題

1. 秋季大会における評議員会提出議題を下記のようにした。
   a. 文部省研究成果刊行費補助金について
   b. 渉外理事増員による会則変更について
   c. 海洋学特別委員会委員報告
   d. 農学運営委員会委員報告
   e. 業界研究連絡委員会委員報告
   f. 編集会議に関する報告
   g. その他
2. 秋季大会に行う予定の編集会議は事情により中止する。
3. 年会委員長より記念号を 150 部増冊申込みがあつたが，100 部の増冊を認めた。

○ 9月編集会議

日　時　9 月 20 日
場　所　東水大大会議室
出席者　編集長以下 11 名
議　題

1. 原稿の進行状態について報告があつた。
2. 原稿校閲について種々意見があり，今後さらに検討することにした。

新着外国文献案内 (1960. 9. 20 現在)

Hong Kong University Fisheries Journal, No. 3, 1960, Hong Kong University, Hong Kong.
Il Giornale della Pesca, Anno X, No. 11, 1960, Rome.
List of Accessions to the Library, Nos. 1532-1535, 1536-1539, Science Museum Library, London.
Рыбоводство и Рыболовство, No. 4, 1960, Министерства Сельского хозяйства СССР, Москва
Журнал Оьщей Биологии, Tome 21, No. 3, 1960, Академия Наук СССР, Москва.

正　誤　表

Vol. 26, No. 6

p. 627　2 行目および 22 行目をつぎのごとく訂正する。

誤　*l*-1-Sulfoxythiazine-3-Carboxylic acid

正　*l*-1,4-Thiazane-3-carboxylic acid S-oxide

Vol. 26, No. 9

		誤	正
目次	古賀文洋	873	877
抄録		952	949
p. 863	表題	迫跡	追跡

昭和三十五年十月二十日　印　刷
昭和三十五年十月二十五日　発　行

第二十六巻　第十号

本号定価 170 円
(送料別)

編集兼発行者　大　島　泰　雄
東京都港区芝海岸通り 6 丁目　東京水産大学内

発　行　所　日本水産学会
東京都港区芝海岸通り 6 丁目　東京水産大学内
振替口座　東京　5 9 5 2 9 番
電話 (451) 2 2 0 0 番

印刷者　笠　井　康　頼

印刷所　株式会社 国際文献印刷社

発売所　株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町 1 8 4
電話 (341) 7 4 4 6

STUDIES ON THE SWIMMING NOISE OF THE FISH

Michio UNO and Tuneo KONAGAYA*

Received Aug. 2, 1960

Introduction

Many notable studies on the sound produced by the various fish have been made. Miyake[1] conducted an exploratory observation about Yellowfin tuna, *Neothunnus albacora* (*Lowe*), and it was followed by Hashimoto, Nishimura, and Maniwa[2)3)] who could detect the fish school by listening to their swimming sound.

If the fish are sensitive enough to recognize each other by listening to the sound produced by another, they might utilize this to chase their food animals and to escape from their enemies.

And also we might be able to apply this in fishing or angling by attracting the fish by using the proper sound.

This print deals with the preliminary experiment of the noise of a single and schooled fish during their swimming.

Material and Method

The first experiment was conducted in a wooden trough of 20×30×20 cm which contained a silver carp, *Carassius auratus* (Linné) (13 cm in length). The sound measuring equipment consisted of hydrophone (Fig. 1, 2), preamp (Model 57–TA), oscilloscope (Model CO–130), Yashica 8 mm cine-camera, and flash gun.

The reception range of sound was about 100 to 10,000

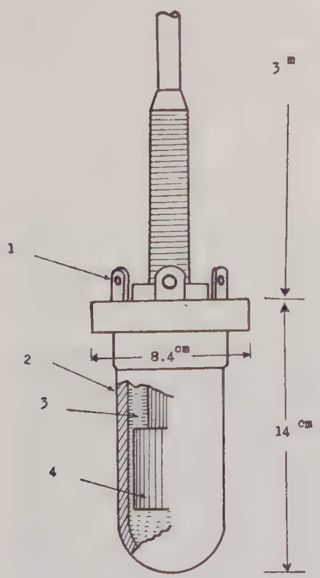


Fig. 1.: 57–TA Hydrophone
1: hanging ring 2: rubber
3: caster oil 4: chitanic acid

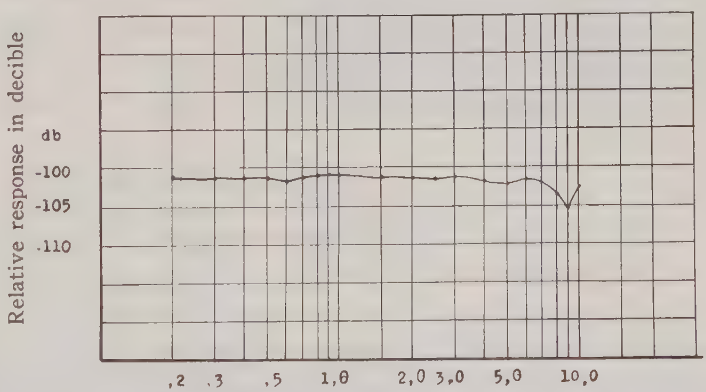


Fig. 2. Frequency-responses of characteristic 57–TA hydrophone.

* Prefectural University of Mie, Otanimachi, Tsu, Mie Prefecture

cycles per second. During these experiments the hydrophone was suspended 5 cm below the surface close to a trough corner. The fish was stimulated by 60 cycles of AC 20 volts. The behavior of the fish was photographed, using 8 mm cine-camera at the speed of 33 frames per second. At the time of measuring, flashing was given to both the cine-camera and the oscilloscope simultaneously in order to mark the signal for synchronizing. The relation between the movement of the fish and the swimming noise was observed from both records.

Secondarily, the swimming sound of trout, *Salmo gairdnerii irideus* (***Gibbons***) in school was recorded by using the tape-recorder. The sound measurement equipment used was sensible to approximately 100 to 9,000 cycles per second. This experiment was performed at the Fish-Farm of the Tokyo University of Fisheries at Oizumi, Yamanashi Prefecture. This fish pond was made of concrete and was 5×26 m in width and 1.0 m in depth. Water temperature was 10.5°C. The hydrophone was suspended 50 cm below the surface in the center of the pond. About 4,000 rainbow trout were kept in this pond.

We also observed the swimming noise of the yellow-tail, *Seriola quinqueradiata Temminck et Schlegel*, in Kuki bay, Mie Prefecture. The yellow-tail (30 cm in length, 3,000 fish) were kept in the cylindrical crawl made of cremona net. The size of the crawl was 3.9 m×3.9 m in width and 3.6 m in depth. Sea water temperature was 22.0°C. The swimming noise was recorded using the same method as that at Oizumi.

Finally, the under water noises of the angling, engines and sprinkler of the skip-jack-fishing boat, Fujimaru (191 GT, 380 HP), which belonged to the Shizuoka Fisheries Experiment Station, were recorded as well.

These experiments were conducted during 1958 to 1959.

Results and Consideration

Fig. 3 shows the oscillogram of the under water sound pressure wave produced by the movement of a single fish. As shown in Fig. 3- (B), (C), and (D) when the sound was produced by the fish passing just below the surface of the water, sometimes the fins of the fish were exposed and the fish jumped up from the water. But as in Fig. 3-(A), no sound was catched when the fish swam perfectly below the surface.

Figs. 4, 5, and 6 indicates the oscillogram and sonograph of underwater sound pressure wave produced by 4,000 rainbow trout. As shown in Fig. 4 - (A), (B), and Fig. 6, as the fish school approached the hydrophone, the sound was distinctly noticeable over the back ground noise and it was a little like the jet stream spouting from a small hole. It seemed that the Doppler Effect was recognized in it. These noises, recorded, contained the frequency of about 500 to 5,000 cycles per second.

When the fish school was jumping up and preying around the hydrophone, as shown in Fig. 4 (C) and (D), the sound contained about 2,000 to 3,000 cycles per second. Fig. 4-(E) and Fig. 6 show the sound caused by the sudden movement of

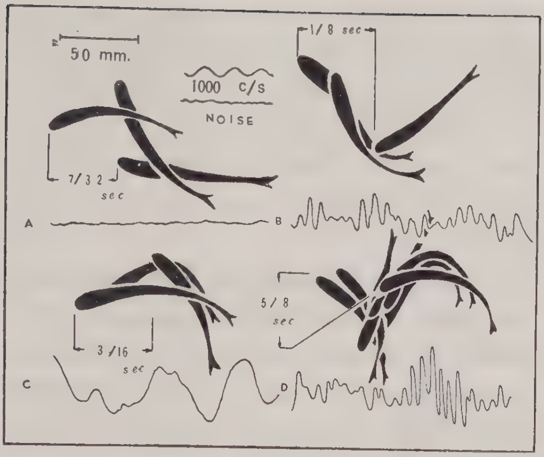


Fig. 3. Oscillograms of the under water sound pressure wave produced by the movement of a fish.
(A): swimming noise (B): noise produced with the fin appeared above the surface of the water (C): swimming noise produced under the surface of the water (D): noise produced by the fish jumping.

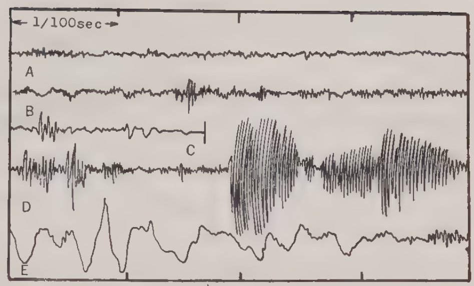


Fig. 4. Oscillograms of the under water sound pressure wave produced by 4,000 rainbow trout. (A): approach to hydrophone (4,000 trout (B): nearer the hydrophone (C): The noise produced just when the fish took a prey. (D): jumping around the hydrophone (E): sudden movement.

the tail of the fish. This sound contained the frequency of 400 cycles per second. This sound might be caused by the fish beating each other or the concrete bottom with their tails.

Fig. 7: shows the oscillogram of under water sound pressure wave produced by yellow-tail. Fig. 7–(A) shows the under water noise of the crawl. Fig. 7–(B), (C),

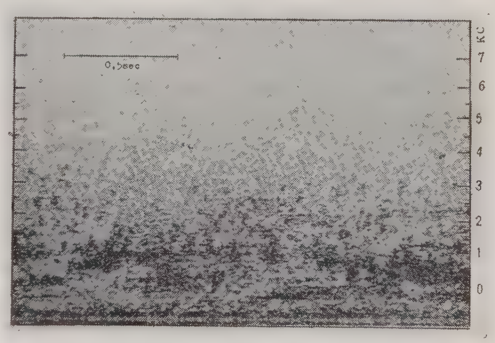


Fig. 5. Sonograph of the under water sound produced by the sudden movement of the fish.

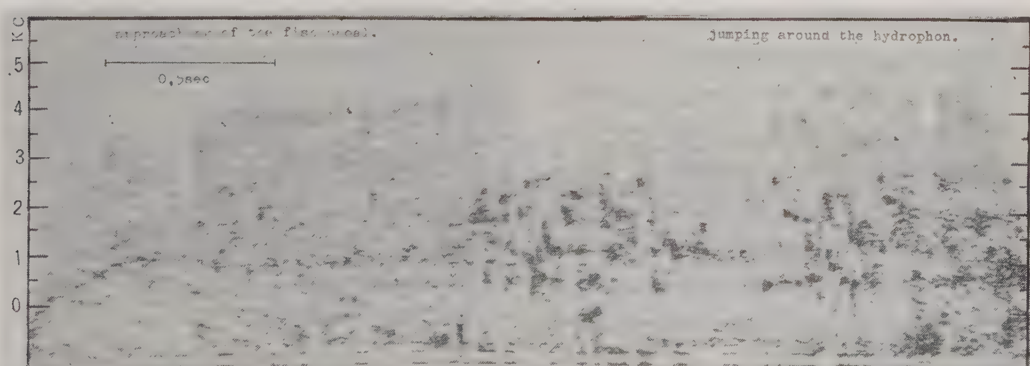


Fig. 6. Sonograph of the under water sound produced when 4,000 trout approached the hydrophone.

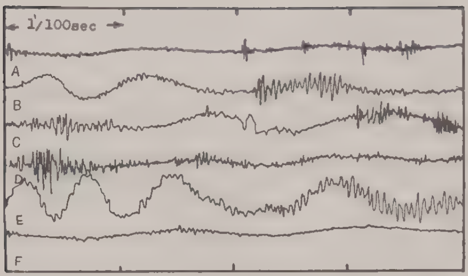


Fig. 7. Oscillograms of the under water sound pressure wave produced by, 3,000 yellow-tail and noise of the fish under the crawl.

and (D) indicates the under water noise that the fish school produced while swimming at the surface of the water. These sound resembled the sound of a ripple it they must have originated in the net movement caused by the swimming of the fish school.

But this noise could not be heard with the trout. Fig. 7-(E) shows the noise produced by the preying of the fish school. The under water noise of the set net was shown in Fig. 7-(F), and in this case only a little back ground noise was recorded.

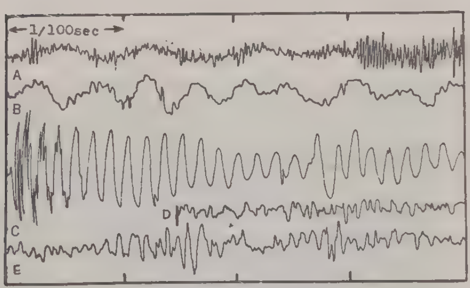


Fig. 8.

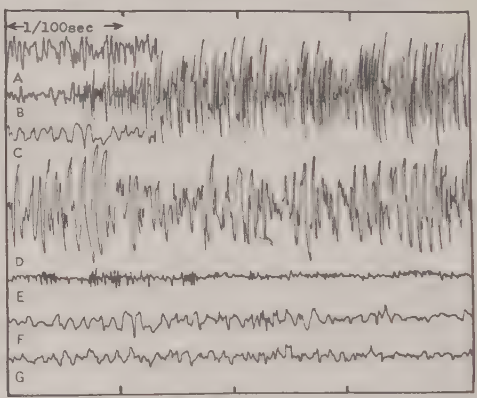


Fig. 9.

Oscillogram of the under water noise pressure produced by skipjack fishing in the open sea. **Fig. 8.** (A): under water noise produced by stern (B), (C): under water noise of skipjack angled (D): sound in sardine crawl **Fig. 9.** (A): sound produced when an anchor was dropped (B): propeller noise (C): skipjack angling at the stern (D): noise of sprinkling.

Figs. 8 and 9 show the oscillogram of the under water noise pressure wave in the open sea skipjack fishing.

The sonograph of the under water noise produced by showering and engine of the ship is shown in Fig. 10. While angling for the skipjack, the sound was composed of the frequency of 200 to 600 cycles. And this sound looked as if a large substance had fallen down on the water's surface. But no sound could be observed when the skipjack approached the prey.

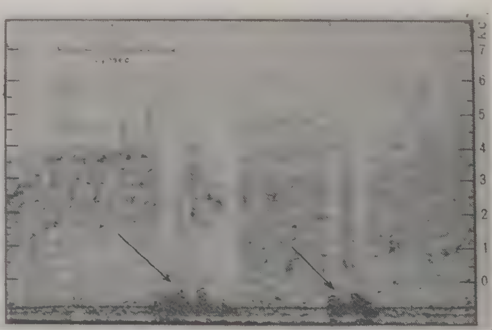


Fig. 10. Sonograph of the under water noise of sprinkling.

When the fishing boat was operating, the noise recorded in the water was very loud, and the sound pressure of showering was very high.

Therefore, the effect of showering in fishing must stimulate the auditory sense as well as the visual sense of the fish.

Summary

The swimming noise of a single fish and a fish school was studied.

(1) Single fish: The sound was produced when a fish swam just below the surface of the water or jumped up from the water, but could not be detected when it swam under water.

(2) Fish school: When the fish school was approaching the hydrophone in a pond, the sound was distinctly noticeable over the back ground noise. But in yellowtail crawl, it was not heard. In a pond or crawl, certain low frequency sounds were produced by sudden movements, jumping, and preying of the fish.

(3) Skipjack fishing: When a skipjack was angled, the sound was observed, but it was not observed when they were approaching the prey. In operating the fishing boat, the noise was very loud, and the sound pressure produced by showering was very high.

Acknowledgement

In closing this paper we wish to acknowledge our indebtedness to several institutions and persons for their support of our work. We are indebted as well to Professor Ishi for much valuable advice during the work, and we wish to express our thanks to Professor Kuroki, Mr. Maniwa and Eguchi, for very helpfull suggestions and criticisms in regard to the problems. Further, we also wish to express our thanks to Mr. Shikata and Mr. Matsui of the CBC Radio Broadcasting Station and to Mr. Uemura and Mr. Tokita of Sony Company, and to Mr. Sekino, Mr. Tukakoshi of Shizuoka Fisheries Experiment Station.

The expentions of this investigations was defrayed in part by a research fund granted from the Ministry of Education,

References

1) Iwao Miyake: Special Scientific Report; Fisheries No. 91 Part 3.
2) T. Hashimoto, M. Nishimura and Y. Maniwa: Tech. Rep. Fishing Boat., 10, (1957).
3) T. Hashimoto, M. Nishimura and Y. Maniwa: Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 26, 245-249 (1960).

ノリの病害, 特に 1959 年漁期東京湾奥部でみられた癌腫病・壺状菌病について

新崎盛敏・井上晃男・河内庄伸

(1960 年 8 月 9 日受理)

THE DISEASE OF THE CULTURED *PORPHYRA*, WITH SPECIAL REFERENCE TO THE CANCER-DISEASE AND THE CHYTRID-DISEASE WHICH OCCURRED AT THE CULTURE FIELD IN TOKYO-BAY DURING 1959–1960.

Seibin Arasaki, Akio Inouye and Yasunobu Kochi*

Synopsis

The yields of the cultured *Porphyra* (Nori) in the Nori fields near the coast of Tokyo City were short in the last season covering from autumn in 1959 till late spring in 1960. The damage seemed to be caused chiefly from the Cancer-disease and the Chytrid-disease which were raging continuously for all the harvest season.

In the Cancer-disease, the symptoms of the affected part showed some variations in the surface views (figs. 1∼4) or in the transverse sections of the frond (figs. 10, 11, 21). In some cases many abnormally swollen cells appeared on the apparently healthy frond, then most of them started into abnormal cell-divisions to make cancer-galls while some of them remained without any change in shape for certain periods (figs. 5, 6, 8, 9).

In tne Chytrid-disease, a Chytrid *Olpidiopsis* sp. nov. was constantly observed on the affected fronds which were collected at any place in any season. In the beginning of the season the *Olpidiopsis* occurred even on the young of *Porphyra*, after then the parasite became more numerous invading in both the young and mature fronds (fig. 14). Sometimes, the host-cells became swollen, on which the abnormal cell divisions took place to make the cancer-galls. (figs. 3, 7, 8, 16).

In the Nori-field, the cancer-galls, the swollen cells, and the *Olpidiopsis*-parasites were observed on the same frond in an aspect mixed with each other or with patterns produced by the other diseases including red-disease or white-disease. It was found that the cancer-galls and the *Olpidiopsis*-parasites occur also on the *Ulothrix*, the *Monostroma* and the *Bangia* which were growing associated with each other on the Nori-hibi (collector-net), but not so frequently as on the *Porphyra* (figs. 2, 9, 12, 13, 20).

On the other hand it was also found, through culture experiments in the laboratory, that the abnormally swollen cells and the cancer-galls occur on the fronds of several kinds of algae including *Bangia*, *Ulothrix*, *Monostroma*, *Enteromorpha*, and *Ulva* when they were cultured in the medium containing respectively the Phenol (C_6H_5OH), trichlene (Cl CH C·Cl_2) or Potassium cyanide (KCN) (figs. 8, 9, 10, 16, 17).

Besides, it was found that the growth-rate and the propagation of *Olpidiopsis* infested on those algae are also promoted by the same chemical agents mentioned above (figs. 19, 20, 21, and Table 1).

From these observations in the field and the culture experiments in the laboratory, it is suggested that the cancer-disease and the Chytrid-disease may become prevalent owing chiefly to some unknown chemical stimulants originated presumably to the sewages and drainages from Tokyo City.

* 東京大学農学部 (Fish. Ins. Fac. of Agr., Tokyo Univ.).

昭和 34 年度（1959 年から 60 年にかけて）のノリ作柄は，有明海奥部と瀬戸内海の一部における例外はあつたが，当初全国的の大凶作が報ぜられた。後期になつて恢復し，ところによつては豊作のところもあつた。“早い頃は芽イタミが発生し，後には白グサレ病が多くて赤グサレ病の発生は少なかつた”とする地方が多く，主原因としては暖冬をあげるところが多い（ノリ漁業関係者よりの通信）。

東京湾内の諸漁場では，場所によつてもかなりようすは違うが大体に不作だつた。そして湾口近くではやや良く，湾奥部特に“江戸前漁場”でひどく悪るかつた。初期に芽イタミが発生し，また例年見られる赤グサレ，白グサレや寒イタミ等も後で起つたが，これらよりも“チヂミ，チリメン，フカ”等と俗称される癌腫病と新崎が前報で報じた壺状菌病が特に目立つた。しかも従来見られたよりもひどい症状を呈し，発病も 11 月初め頃から翌春 3 月末の終末期までずつと続く等例年とは著るしく違つていた。これらの状況から本期の凶作は癌腫病と壺状菌病，特に前者が強く影響したと解された。これらに関連する研究を行ない，若干の新知見をも加えることができたからここに報じたい。

1．癌腫病： チリメン，チヂミまたはフカ等と呼ばれる病気は古くから知られ[3,5]，毎年多少はどこででも発生する。従来は発病区域や発病期はやや限られていたとしても良い程で，幼葉が初期から罹病することはほとんど無く大体年があけてから成葉に発生がみられ，また仮令罹病しても全病葉が腐死流失することはなかつた。そのためか芽イタミや赤グサレ，白グサレのようには問題視されなかつたが，本期には広範囲にわたつて癌腫病葉が多量みられ，かつ漁期のはじめから終末期まで（ヒビ杭上の生残り小葉には 5 月末でも）ひき続いて幼葉や成葉に，ひどい症状を呈して萎縮畸形化，生長阻害をきたした物が見られて注目された (fig. 1〜3)。ひどい症状を呈する病葉の出現は湾奥部特に東京都下の漁場において多く，湾口近くの横須賀市南部漁場（走水，伊勢町，馬堀等）でも発病はあつたけれども，罹病率は少なく，また症状も軽微にとどまつていた。

癌腫病の症状についてはこれまでにも種々報ぜられておる[2,3,5]。本期の病葉でもいろいろの場合がみられた。表面観の様相は斑状，アバタ状，山脈状等種々で (fig. 1〜4) 一様でなかつた。なお一般に病葉の凸部の表面にはノリ単胞子の発芽体，アオノリ，ヒビミドロ，硅藻等の雑物の着生が多かつた。癌腫の横断面観では大ざつぱに分けて，a）細胞に無方向性の分裂増殖が起つて多層の瘤状に隆起している場合と，b）一部の細胞間に不均等の分裂が起つて起伏，波状になつている場合とがあつた (fig. 10〜11)。多くの場合は a 型で体表に隆出瘤ができていたが，これができる初期の段階にも，a）一見して他と区別できる巨大細胞が起原になる場合と，b）外観的には変形が起きてない細胞に異常分裂が起る場合とがあつた (fig. 5, 7 d)。

なお巨大細胞は幼葉にも成葉にも，また体上の出現部位も任意のところに現われ，個々遠く離れてマバラに現われる場合や若干個が群れ集つている場合等あり，更にその大きさや色調も，巨大化とともに色素体も変形し淡くなる場合やかえつて濃くなつている場合等あつて一様にはいえなかつた (fig. 5, 6, 8, 9)。巨大細胞の全部が分裂増殖して腫瘤になつて行く訳ではなく，ずつとそのままで生き長らえる場合もしばしば見られたが，この場合も癌腫病の一種とし取扱つても良かろう。なお巨大細胞の出現は幼体において多く，地域は川口に近い漁場で多く起る傾向があつた。

ノリ漁場内にノリと同時に混生する雑藻，ヒビミドロ，アオサ，アオノリ類，ヒトエグサ，ウシケノリ等には癌腫病の発生がこれまで報ぜられていないが[4,5]，本期の江戸前漁場内の諸所でヒビミドロ，ヒトエグサに発癌体が得られた (fig. 2, 9, 10, 12, 13)。罹病率はノリに比べるときわめて少なく，症状はヒトエグサにおいてはノリにやや似た外観を示すが，ヒビミドロではかなり違い，細胞の巨大化だけで止まつているのが多かつた (fig. 12, 13)。そして発病期もおくれてヒビミドロでは 12 月下旬頃から，ヒトエグサでは 2 月中・下旬頃から現われはじめて 3 月に最も多く発生し，以後 5 月末まで続いた。なおアナアオサとウスバアオノリ，ヒモアオノリ (*Enteromorpha nana*)，カプサアオノリ等では海中産では罹病葉がみられなかつた。しかしこれらでも実験室内での薬物処理によつては，後述のようにヒトエグサと同様に巨大細胞も腫瘤形成も見られたから，天然産のアオサ，アオノリ類に発癌が全然見られないとはいえないかもしれない。

2．壺状菌病： 壺状菌の *Olpidiopsis* sp. nov. のノリ体寄生については前報で述べた[1]。この病気も本期

はきわめて広い範囲に，はじめから終りまで全漁期にわたり，ひどい症状を示して蔓延した。なお菌寄生はノリ竹杭に生残つたノリ小葉に5月末にも多数見られた。壺状菌発生の様相，消長は癌腫病の場合と大体一致し，東京湾内の各地でみられたが，特に湾奥部でひどく，湾口近くでは軽微だつた。なお菌の分布について前報では“瀬戸内海や有明海での存否は不明”としたが 60 年1月はじめに広島阿賀地先の漁場産ノリ体上に多数の寄生を見つけた。注意して観察すれば，他地域にも広く分布するのではなかろうか。

なおアマノリ体上に寄生する壺状菌は *Olpidiopsis* sp. のみでなく，他に *Synchytrium* や *Physoderma* と思えるものも時に観察されたから，今後よく検討したい。更に前報で“*Olpidiopsis* の寄生はアマノリ類だけに限られ，他の藻類体には天然でも見つからず，室内実験でも感染させることができなかつた”としたが，本期の詳しい調査で東京湾奥部の諸地でノリ網やヒビ竹上に混生するウシケノリ，ヒビミドロ，ヒトエグサ体上に菌を見つけた fig. 13, 19, 20)。そして前2者では見つかるる機会が割に多かつたが，ヒトエグサではまれに見つかるに過ぎず，またどこでも見付かるという訳でなくて河口近くに限られる傾向があつたし出現期も 12 月末頃から後であつた。また他のアオサ，アオノリ類では天然産では寄生が見つからなかつたが，実験室内培養では後述のように，条件によつてこれらにも寄生が起つた (fig. 17, 18)。

前報の考察で“北海道では壺状菌寄生がノリ以外の藻体にも報ぜられているが，外囲条件が良いとノリ以外の物にも寄生が起るのだろうか，別種の壺状菌なのだろうか？”と推察したが，後述のように (Table 1) 室内実験で種々の藻体への寄生いかんを調べてみると，ノリ以外の物にも確かに寄生すること，そして培養条件によつてかなり相違があることが分つた。なお寄生してもアマノリよりは感染率が低く，また藻体上での菌の繁殖状態は良くなかつた。これらのことから *Olpidiopsis*, sp. nov. の寄生はアマノリ類，ウシケノリを好んで犯すものと考えられた。

3. 癌腫と壺状菌寄生との関連： 古く遠藤[6] はアマノリの腫瘤中に緑藻の *Chlorochytrium* sp. の寄生を報じ，藤山[2] は近時工場廃水の影響による発癌とマスタードガス，X線照射による人為発癌を報じた。他方陸上の農作物では古くから，特に欧米で壺状菌類の寄生による癌状腫瘤の誘発形成が知られている[7]。

ノリの癌腫形成過程には上述のごとく 2, 3 の場合が見られるが，まず巨大細胞が出現してこれから腫瘤ができ上つて行く場合がよく見られた (fig. 5, 8)。その際巨大細胞の出現は壺状菌の寄生と無関係に起つていると思える場合が多かつたが (fig. 5)，菌が寄生したために巨大化する場合もあつた (fig. 7, 16)。菌を含む巨大細胞から発した腫瘤では，後に中央部の巨大細胞の死，崩壊が起つて中腔になり，やがて穴があくこともあつた。このような菌寄生→細胞巨大化→癌腫形成に至る過程は，海中でとつたノリ病葉上でも追求できたし，また室内実験でも実証することができた。更に実験室ではノリ以外のヒトエグサでも壺状菌寄生から癌腫形成に至る経過が辿れる場合があつたが，ノリにおける程の高い出現率はなかつた (fig. 9, 21)。

壺状菌に犯されるとすべての寄生細胞が巨大化するとは限らぬし，またかくて巨大化した細胞は分裂せずにそのままで残ることもあり，すべてが癌腫形成まで進行するとは限らない。また他方，ノリの癌腫病葉上にいつも壺状菌寄生がある訳でなく，また癌腫瘤が菌寄生で誘発されるものばかりという訳でもない。しかし上記のように壺状菌寄生と癌腫形成との関係が辿れる時もあつた。

更に前報でも少しく考察した壺状菌寄生と白グサレ状症状との関係であるが，本期において注意して追求したところ，菌に犯された寄生細胞に近接する 2, 3 細胞が死に，紫青変から白化萎縮して行くのがしばしば見られた (fig. 19)。そして死細胞内に何ら寄生物らしいものもないから，菌を含む隣りの細胞からの影響で死んだものと解して妥当と思えた。

これらを関連させて考察すると，壺状菌に犯された細胞には，自体を巨大化したり，更に異常分裂，発癌まで導く作用のある代謝物質が作られ，そして此物は往々自己に隣接する細胞を死に到らせたり，異常分裂を誘発する能力を持つているのではなかろうかと推測されるが，幾多の検討を要するので後に報じたい。

4. 薬物による発癌と壺状菌の繁殖促進： 癌腫病と壺状菌病は東京湾内の各地で起つたが，特に湾奥も川口付近がおいてひどかつた。藤山[2] はかつて愛知や広島県下のノリ漁場で癌腫発生が工場廃水と関係深いことを報じた。東京湾奥部の本期の発病状況からも此点が考えられるので少しく検討してみた。詳細は別に報

Table 1. Effect of some chemical agents for causing Cancer-gall or growth promotion of *Olpidiopsis* on the frond of *Porphyra*.

		Cancer	*Olpidiopsis*
Sea-water	17.65‰ Cl	−	+
(control)	14.43‰ Cl	−	++
Phenol	0.1 %	d	d
	0.02	+	+
	0.01	+	+++
	0.002	++	+++
Trichlene $Cl\text{-}CH{=}C\text{-}Cl_2$	0.1 %	d	d
	0.05	++	+
	0.02	+++	++
	0.01	+++	−
KCN	0.02%	d	d
	0.01	+	+ (d?)
	0.005	±	+++
	0.002	−	−

d; dead of frond or cells of *Porphyra*.
−: non occurrence,
±: doubtful occurrence.
+, ++, +++: degree of occurrence.

ずるが，ここで本期の症状に関連深い 2，3 の実験結果を予報的に報じておきない。

ノリの作柄不良の川口部漁場に影響すると考えられる川沿いにある 2，3 の工場からの廃水その物を用いた培養実験では，壺状菌繁殖を促進させる場合は見られたが，今までのところまだ発癌を誘発するような場合は見られかつた。しかしフェノール，トリクレン(トリクロルエチレン $Cl{\cdot}HC{=}C{\cdot}Cl_2$)，シアンカリ，アムモニア水などの試薬をそれぞれ単独に含有させた海水中では発癌や壺状壺の繁殖促進が見られる場合があつた (Table 1)。確実なことをいうにはなお検討を要するが，上記の中 3 試薬は発癌（細胞の巨大化も含める）と同時に壺状菌の繁殖促進にも効くように思え，しかも試薬によつて両者に大体同等に効くもの（フェノール），発癌により強く効くもの（トリクレン），菌の繁殖促進により強く効くもの（シアンカリ）等の相違があるらしいことが推測された。

なお実験に際してはアサクサノリ（葉体片，単胞子の発芽体，*Conchocelis* 体)，ウシケノリ（葉体と発芽体)，ヒビミドロ，ヒトエグサ，ウスバアオノリ，ヒモアオノリ，カプサアオノリ，アナアオサ（葉体片と発芽体）等を，時に応じて 3～4 種混じえて同一容器中に入れて培養したが，試薬の効き方は種類が別でも大差が見られなかつた。また天然では発癌の見られぬアオノリ類，アオサ等においてもが起り，発癌し，また壺状菌寄生も同様に天然産で見られぬ種類の体上でも見られた。しかしいずれも出現率が低かつた。なお往々薬物の作用による単なる細胞質の膨潤・淡色化・細胞巨大化と真の壺状菌寄生（これら両現象ともアサクサノリ，ウシケノリ，ヒビミドロ，ヒトエグサにおいては出現率が高く，かつ識別が容易）との識別が容易でなかつた (fig. 17, 18)。

今後検討を要する問題も多々残つているが，藤山が報じた薬物以外にも発癌を誘発したり，同時に壺状菌の繁殖促進作用も持つ物質があり，しかもこれらは近時工業の発達に伴い海水中への注入が増加していると推測される物である点は興味深いことと思える。なお芽イタミの発生は年々多く報ぜられるようになつたが前報で報じたよりも壺状菌寄生との関係が大きいことが分つた (fig. 14, 15)。芽イタミに打勝つて生残つた葉体には往々アバタ状の癌腫瘤が見られたが，芽イタミ発生にはこれらを誘発する作用能を持つ薬物を含む海水塊の動き，滞留漂流との関係も考えられるのではなかろうか。

5. 本期凶作の主原因についての考察: 大凶作が起きた原因は，自然的または人為的な諸要因が複雑にからみ合つた結果であろうから，真因を掴むことは容易ではないが，これについて少しく考察してみよう。

暖冬が主原因として広く流布されているが，漁期中の水温は大低のところで平年より少し高めではあつたが (Table 2)，水温の変遷だけを見ると，あれ程の大減収の主原因とは考えられない。また平年値との差はところによつても違うが，差が大きかつたところ程被害が大きかつた訳ではなく，また水温の高い湾口部または外海の漁場が，低い湾奥部ほどの打撃をうけていない事実等から推しても暖冬すなわち高水温の持続だけを原因に取上げる見方は妥当ではなかろう。本期にも従来多くいわれた赤グサレ症状はもちろん見られたし，またより以上に白グサレ症状のが多くみられた。しかし両病の蔓延状況では両病が大減収の主因となつたとは考えられぬ程度だつた。白グサレ症状は割に早期から遅くまで見られたが，1～2 月になつては一見白グサレとよく似た“寒イタミ”すなわち寒冷障害の症状が多く混じつていた (fig. 22, 23)。暖冬に寒冷障害が多く見られたというとおかしいが，次のような事情を考えると納得できるはずと思われる。すなわち 11～

Table 2. Seasonal change of water temperature at several stations located on the coast of Tokyo Bay during the period from October 1959 till March 1960.

Station		Chiba	10-Gochi	Omori	Honmoku	Mabori	Kannonzaki
59 Oct.	I	22.4 (1.4)	21.7 (0.8)	21.5 (1.2)	…	22.1	21.5 (1.1)
	II	20.9 (1.4)	20.0 (0.2)	19.7 (1.2)	…	20.7	21.0 (2.0)
	III	18.8 (1.7)	18.4 (0.2)	17.6 (0.3)	…	…	19.1 (0.9)
Nov.	I	18.5 (1.5)	17.1 (0.1)	17.2 (0.9)	15.9	17.2	18.2 (0.4)
	II	16.4 (1.3)	16.2 (1.0)	15.0 (0)	15.4	15.6	17.9 (0.7)
	III	14.9 (1.6)	14.4 (0.4)	13.4 (0.5)	…	14.3	16.7 (1.3)
Dec.	I	14.2 (2.7)	12.9 (0.8)	11.8 (0.1)	12.6	12.9	15.5 (1.2)
	II	12.2 (1.6)	12.8 (1.6)	10.9 (0.5)	11.2	11.4	15.0 (0.8)
	III	10.0 (0.9)	10.3 (0.4)	9.4 (0.1)	10.0	9.5	13.5 (0.8)
60 Jan.	I	10.1 (2.4)	9.8 (0.8)	9.3 (1.0)	9.2	…	13.1(-0.5)
	II	8.6 (1.9)	9.1 (0.8)	8.5 (1.0)	9.3	9.6	12.9 (1.5)
	III	6.8(-0.1)	7.6(-0.4)	7.2 (0)	8.9	8.5	12.4 (1.5)
Feb.	I	8.1 (1.4)	8.5 (0.5)	7.8 (0.7)	8.8	8.7	11.6 (0.7)
	II	8.1 (1.3)	8.2 (1.0)	7.4 (0.1)	8.5	9.9	12.3 (1.3)
	III	9.1 (1.3)	9.2 (0.3)	9.2 (0.2)	9.0	9.7	12.2 (1.3)
Mar.	I	10.3 (2.1)	9.9 (0.7)	9.6 (1.1)	9.2	10.7	11.9 (1.6)
	II	10.2 (0.8)	11.2 (0)	10.6 (0.4)	10.0	12.5	13.1 (1.7)
	III	12.0 (0.8)	12.3(-0.4)	11.7 (0.6)	…	13.0	14.1 (1.6)

I, II, III: mean value of water temperature in °C respectively in first, second, and last decade in a month.
figure in ( ): deviated value in °C from average of these five or ten years.

12月頃の病害対策としてノリ網を高く張上げておくが，暖冬時には往々高すぎたり，張上げ期間が長すぎて1月以後まで続けられる傾向がある。年末以後には夜間の干潮が特に大きくなるから，このような高さだとほとんど毎晩干出過剰になり，更に暖冬といつてもいつも高温続きな訳でなく例年よりも低温の寒波が来襲することもある。しかもこの時に強風が吹き，それが大潮時に当る等すると，悪条件が加重されて寒冷障害の症状が現われる。寒冷障害については後日稿を改めて詳報したいが，これにイタメられた葉体は点々と局部的に小部分の細胞群の死，白化萎縮が起り，また往々葉面が凸凹していわゆるチヂカんで軽い癌腫症状を呈し，伸長が阻害される (fig. 22, 23)。

これらの諸病害よりも癌腫病と壺状菌病がひどい症状で蔓延し，発病期もはじめから終りまで全漁期にわたつていた。それゆえ大凶作の主原因としては，暖冬ももちろん大きく影響はしていただろうが，より以上にこれらの両者を考えた方が妥当と思える。そして両者の病気を誘発したのは海況・気象等の物理的環境要因の異常ももちろん関係してはいただろうが，より以上に，海水の化学的要因の異常，特に工場廃水や都市汚水の注入増加，その中の有害物質蓄積やそれからの分解物，あるいは沿岸の埋立工事作業に伴う排出汚泥の増加等が複雑にかみ合わさつた異常が主因と考えられる。ただし癌腫病と壺状菌病ともに，軽微な症状ではあつたが，化学的要因異常がそう大きいとは考えられない湾口近くの漁場でも起っていたから，なお今後多くの検討を要することではあるが。

摘　　要

1) 1959～1960年期のノリ作柄は，東京湾奥部漁場では終始甚だしく悪かつた。症状は癌腫病と壺状菌病が広く蔓延し，しかも初期から終期まで続き，例年に見られぬひどい病兆を呈していた。

2) 癌腫病には病部の表面観または横断面観で 2，3 の変型があるが，細胞が巨大化したままで異常分裂を起さぬ場合もあつた。ヒビミドロ，ヒトエグサにも癌腫発生が見られた。

3) 壺状菌病には *Olpidiopsis* sp. nov. の寄生によるのが多かつたが，時に *Synchytrium* sp. や *Physoderma* sp. と思えるものの寄生も見られた。*Olpidiopsis* の寄生はノリの他にウシケノリ，ヒビミドロ，ヒトエグサ体上にも見られたが，寄生率は低く，かつ出現地域も川口近くに限られていた。

4) 壺状菌寄生が発癌の原因になつている場合も見られ，癌腫病の中には壺状寄病との間にある関連を持つのもあるように思えた。

5) 室内培養によつてフェノール，トリクレン (Cl-CH=$C \cdot Cl_2$)，シアンカリ等に発癌作用や壺状菌繁殖促進作用のあることが分つた。アマノリ類だけでなくヒビミドロ，ヒトエグサ，ウシケノリ等に対しても効き更に天然産では癌腫，壺状菌寄生が見られぬアオノリ類，アオサにも発癌，壺状菌寄生が起つた。

6) 東京湾奥部の大凶作は主として癌腫病と壺状菌病の発生に原因すると思われるが，両者の病害を誘発したのは暖冬，高水温持続等の物理的環境要因の異常もあつただろうが，より以上に化学的環境要因の異常が強く影響していると思われた。

擱筆に当り，恩師三宅驥一先生に対し，また本報の一部は水産庁漁業振興課からの依託で行なわれた調査研究で得られた成果で同課に対し，深く感謝する。

文　　献

1) 新崎盛敏： 本誌，**26**: 543 (1960).
2) 藤山虎也： アサクサノリ癌腫病の細胞化学的研究，水産学集成，829～840，(東大出版会)，(1957).
3) 岡村金太郎： 海草海苔，博文館・東京 (1909).
4) 瀬木紀男： ヒトエグサの腐れについて，藻類 **1** (2): 58～60 (1953).
5) 時田　郇： 藻類の癌，藻類，**6**(3)，93，1958.
6) 遠藤吉三郎： 海産植物学，博文館・東京 1911.
7) HEALD, FR. D.: Manual of Plant Disease. 2nd Ed. 455～489, New York (1933).
水温データーは東京都水試・千葉県内湾水試の毎月観測表（プリント）と，観音崎海洋博物館の山下氏および馬堀の日大臨海実験所の東氏，本牧漁業組合の観測値，また新崎自身の観測値によつた。

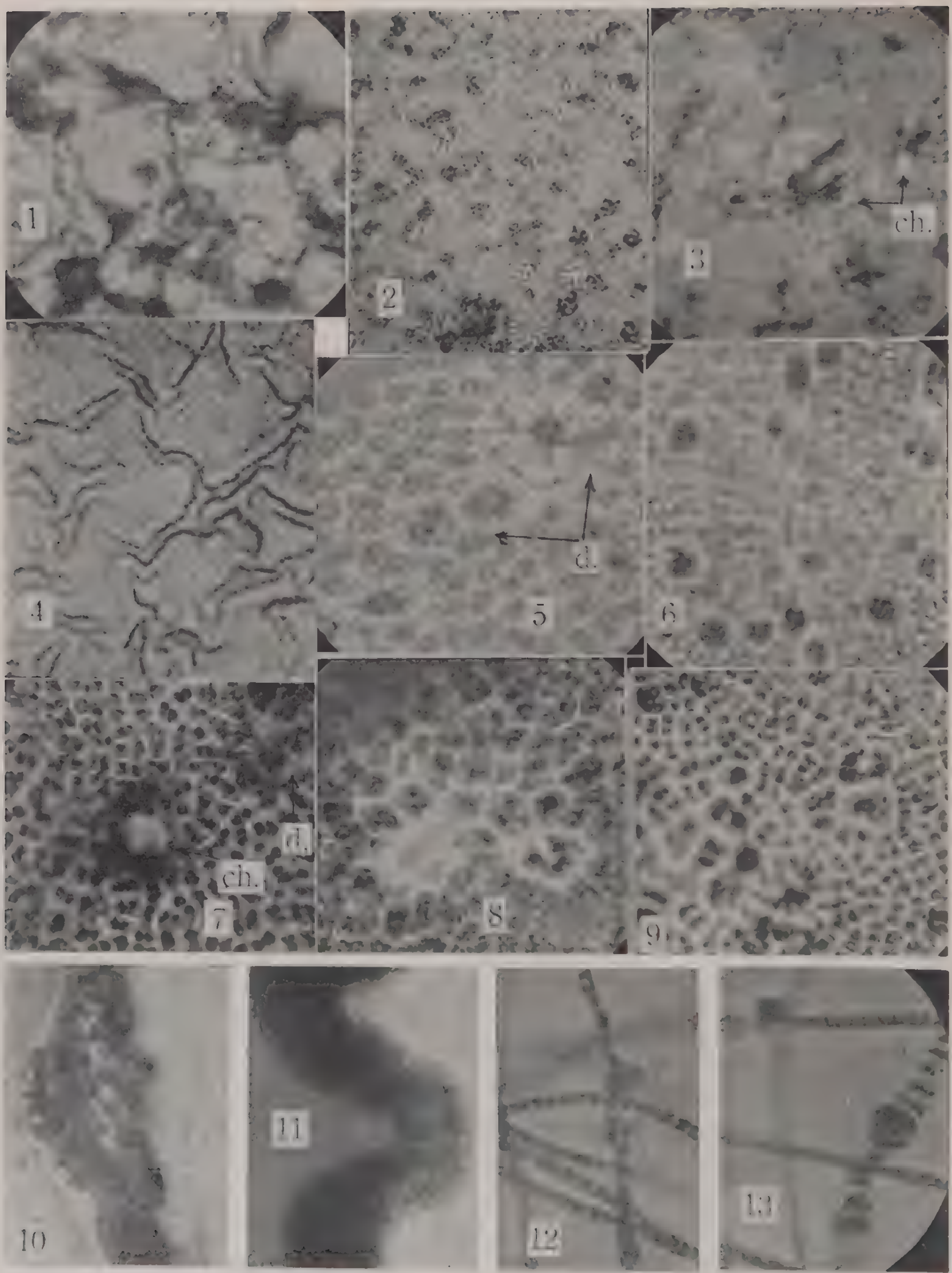


Plate 1. Micro Photographs concerning to Cancer Disease.

1∼4, various types in surface view: 1, progressed stage on *Porphyra*. 2, early stage on *Monostroma*. 3, early stage on *Porphyra*, mixed with *Olpidiopsis*-parasites (white spots, showed with *ch.*). 4, progressed stage on *Monostroma*. 5, 6, abnormally swollen cells, two cells (d) set in divisions to make galls. 7, 8, cancer-galls originated from *Olpidiopsis* parasite on *Porphyra*. 9, swollen cells and early stage of cancer galls on *Monostroma* produced by the experiment in trichlene solution. 10, 11, two types of affected part in transverse section: 10, on *Monostroma* and 11, on *Porphyra*. 12, 13, swollen cells mixed with *Olpidiopsis*-parasites on *Ulothrix*.

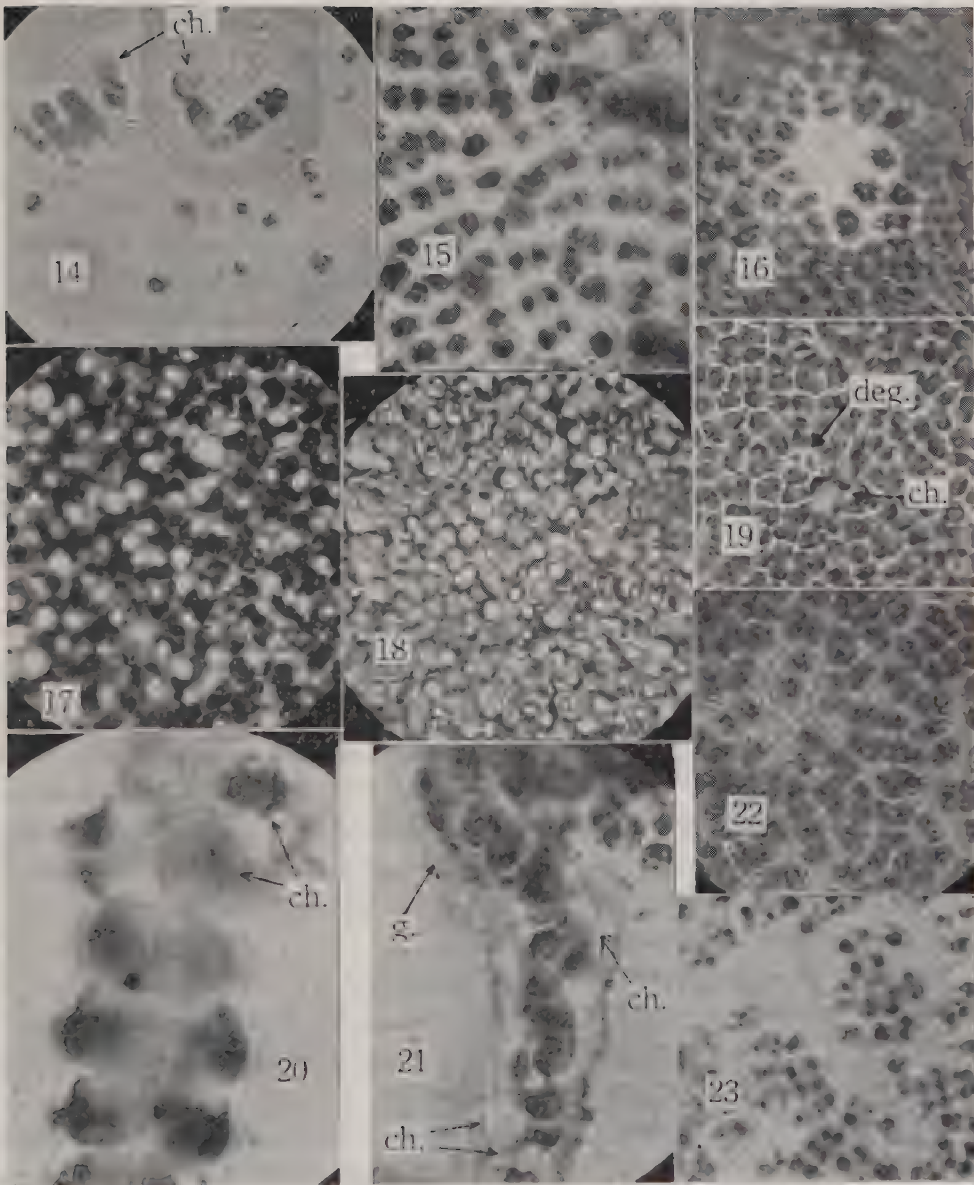


Plate 2. Micro Photographs concerning to Chytrid Disease.

14, *Olpidiopsis* parasited on germlings of *Porphyra*. 15, spores of *Olpidiopsis* attached on the surface of *Porphyra*. 16, *Olpidiopsis*-parasite and swollen cells on *Porpyyra*. 17, *Olpidiopsis* parasites on *Enteromorpha* produced experimentally in the medium containing phenol. 18, *Olpidiopsis*-parasites on *Monostroma* produced experimentally in the medium containing trichlene. 19, two *Olpidiopsis*-parasites and two dead cells killed by the infleuence of neighbourings. 20, *Olpidiopsis*-parasites on *Bangia*. 21, transverse section of cancer gall mixing with *Olpidiopsis* parasites on *Monostroma* produced experimentally in the medium contalning trichlene. 22, 23, surface views of *Porphyra* injured from severe cold.

TWO NEW SPECIES OF CIRRATULID AND NEPHTHYDIDAE (ANNELIDA: POLYCHAETA)

Ryonosuke KITAMORI*

Received Aug. 11, 1960.

From the samples of polychaetous annelids, which were collected by a grab sampler from the coastal bottom of Seto-Inland-Sea area and from stomach contents of fishes caught from the area, two new species of the Cirratulid and Nephthydidae were observed.

The author wishes to acknowledge the kind guidance given by Dr. T. HANAOKA, Director of the Inland Sea Regional Fisheries Research Laboratory, and the cooperation given by the staff members of the Laboratory, and also useful advices on available references given by Dr. H. UTINOMI of the Seto Marine Biological Laboratory, Kyoto University.

1. Cossura coasta sp. nov.

Only five species[1), 2)] of genus *Cossura* have been recorded previously. *C. longicirrata* WEBSTER et BENEDICT was collected by USCHAKOV[3)] from Northern Pacific, adjacent waters of Japan. A present species differs from all of them. Of many individuals, almost all imcomplete posteriorly, collected from the coastal region of Seto-Inland-Sea, only two were complete, of which one was measured 10 *mm.* in length and 0.5 *mm.* in width and the other 15 *mm.* in length and 0.6 *mm.* in width, having 95 and 107 segments respectively. The larger one was filled with ovary. Body is long, cylindrical, and tapers to both extremities.

The prostomium is a depressed conical lobe and has two nuchal organs, which are seen like oblong furrows, but lacks eye spots (Fig. 1, A). The proboscis, everted by a specimen, is a soft, lobed pouch extending from a short cylindrical base and terminating distally in 10 digitate subequal lobes.

The first two visible segments are apodous (Fig. 1, A). On the first setigerous segment dorsal and ventral bundles are closed to each other forming almost a continuous fan (Fig. 1, C). But on the rest except this segment they are distinctly separated (Fig. 1, D). The present species, as the other species of this genus, lacks parapodia and the setae originate directly from the lateral body wall. A single long, cylindrical tentacle originates from the middorsum of the third setigerous segment (Fig. 1, A). It measures 8 and 12 *mm.* in each of two complete specimens. There are two kinds of setae in this species, one type is a longer simple capillary which is

* Inland Sea Regional Fisheries Research Laboratory, Ujina, Hiroshima, Japan.
(内海区水産研究所)

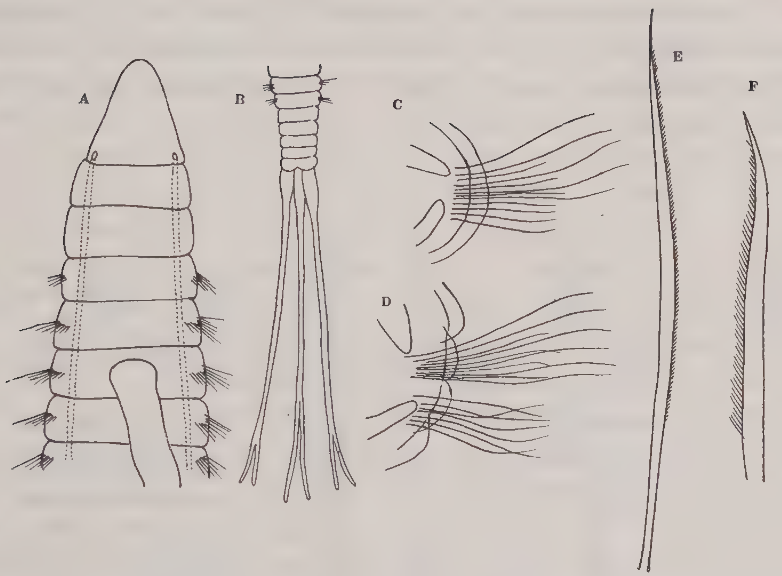


Fig. 1. *Cossura coasta* sp. nov.
A. Anterior region ×41. B. Pygidum ×41. C. First setigerous segment ×51.5.
D. Second setigerous segment ×51.5. E. Longer simple capillary seta ×312.5.
F. Shorter simple capillary seta ×312.5.

armed with spines along its outer edge. They are found on notopodium only (Fig. 1, E). Another is a shorter simple capillary which is stiff, distally pointed, and very spinous along the outer edge (Fig. 1, F). They are found on notopodium and neuropodium. On last five segments of posterior end these setae disappear.

The pygidium bears three long anal cirri, one pair lateral and the other mid-ventral, all branched at its end, measure about 2.5 and 3.0 *mm.* in length (Fig. 1, B).

Among five species[1), 4)] in the genus *Cossura* only two species (*C. longocirrata* WEBSTER and BENEDICT[5)], *C. candida* HARTMAN[6)], have two visible apodous segments. On *C. longocirrata* W. & B., the single tentacle originates from the middorsum of the second setigerous segment. In these points the present species is similar to *C. candida* H. but differs in the following reasons, 1: In the first setigerous segment dorsal and ventral bundles are closed to each other but in the rest segments they are distinctly separated, 2: Three long anal cirri are branched at their ends.

2. Nephthys sukumoensis sp. nov.

A specimen of this species was taken from the stomach contents of *Poecilopsetta plinthus* (JORDAN et STARKS) (Osteichthyes: Pleuronectidae) caught by the two-boat trawlers in Sukumo Bay, Kochi Prefecture, on June 2, 1958.

A conspicuous character of the species of this genus concerns the nature of the interramale cirri (=intercirri)[7), 8)], by which this genus is classified into two groups,

foliaceous in some parapodia and not foliaceous[7]. There were five recorded species of the former group[9, 10, 11, 12, 13, 17], of which three species[3, 9, 14, 15, 16] have been reported from the adjacent water of Japan. The present species belongs to this group and is new to science.

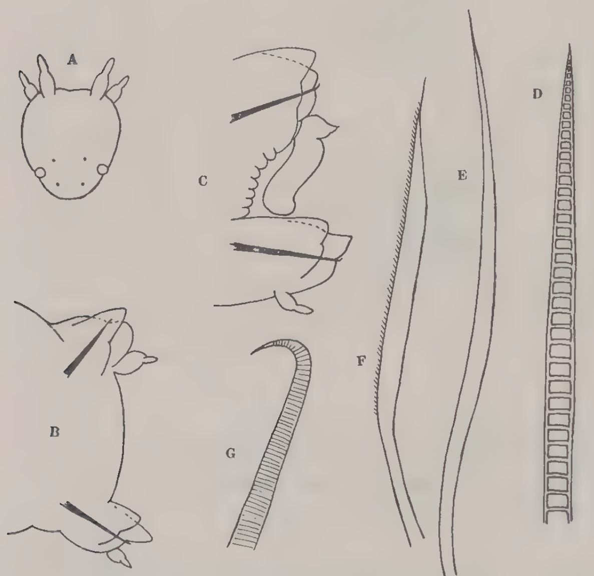


Fig. 2. *Nephthys sukumoensis* sp. nov.

A. Prostomium seen from above ×25.5
B. Second parapodium in anterior view, setae omitted ×25.5
C. 25th parapodium in anterior view, setae omitted ×25.5
D. Transversely barred seta ×250.
E. Distal part of a long slender postacicular seta ×250.
F. Shorter postacicular seta ×312.5
G. Acicula ×51.5

Body measures 14 *mm.* long by 1.0 *mm.* in the specimen with 52 setigerous segments. The body is the widest near the anterior end and tapers gradually towards the tail. The prostomium visible from above is approximately egg-shaped (proboscis retracted and longer than its width; the four frontal antennae are subequal, and the ventral pair attains to little further behind of the lower surface of the prostomium; all are simple and taper distally. Two small rounded papillae are found at the posterior dorsal angles of the prostomium and four small black eyes on its upper surface (Fig. 2, A). The proboscis of the specimen did not be protruded, and so far as could be ascertained by dissection, there are 20 rows of proximal papillae, bearing 4-7 papillae on each row. There is no distinct middorsal or lager midventral papilla.

The first foot has barred setae and capillary setae in the ventral division, but it has no branchiae. In the second foot the dorsal and ventral divisions are widely separated from each other and the various lamellae of the ordinal type are present, though still very small. There is a small ventral cirrus, and barred setae are present on both divisions. At the ventral side of the dorsal division there is a small lobe, which appears to be the rudiment of the branchiae (Fig. 2, B). The third and fourth feet are quite similar, but a distinct change occurs on fifth foot, which is almost normal. The branchia is foliaceous and thick, with a small cirrus on its upper basal portion but they are not clearly recurved or curved outward. The normal condition

of the anterior feet, the 25th parapodium is shown in fig. 2, C. Preacicular setae are transversely barred (Fig. 2, D). Those of the first three segments are more conspicuous, coarser and longer than the corresponding postacicular setae. At the posterior segments from the first three segments they diminish in thickness and size so as to be surpassed by the postacicular setae. The barred setae are found only on the anterior eight feet, and thereafter they are replaced by smooth capillary setae. Postacicular setae are of two kinds, most of which are very long, slender capillary and appear smooth along the cutting edge (Fig. 2, E), while a few are shorter setae with slightly flattened blades serrated very finely along one edge (Fig. 2, F). Parapodial acicula occurs singly and is pale to dusky color; it is projected slightly and recurved (Fig. 2, G). Acicular lobes may be incised to gently rounded at the distal edge. On the posterior feet the fillets are small and considerably surpassed by the spinal lobes. At the 47th foot the branchia suddenly becomes small, and is absent on the succeeding five posterior segments: The anus situates at the terminal point, and there is a single short tapering anal cirrus.

The present species differs from *N. phyllobranchia* McIntosh[12], *N. paradoxa* Malm[11], *N. brachycephala* Moore[9] and *N. tulearensis* Fauvel[10], and is similar to *N. polybranchia* Southern[13] in the point of intercirri which are found at first on the second segment and its subsequent ones. But the present species differs from the *N. polybranchia* S., which possesses a pair of eyes and also barred setae on the anterior 12–16 feet, in the following respects: 1) Prostomium with four eyes at the posterior margin, 2) Barred setae found only on the anterior eight feet. The name of this new species was taken after that of Sukumo Bay, where the first specimen of this species was collected.

References

1) Hartman, O.: *Allan Hancock Foundation Publications, Occasional Paper*, **23**, pp. 355-628 (1959).
2) Reish, D. J.: *Jour. Washington Acad. Sci.*, **48**, pp. 53-55 (1958).
3) Ushakov, P.: *The polychaeta from the Far-Eastern Sea of the USSR*, pp. 1-445 (1955).
4) Jones, M. L.: *Jour. Washington Acad. Sci.*, **46**, pp. 127–130 (1956).
5) Wesenberg-Lund, E.: *Danics Ingolf Exped.*, **4**, pp. 1–92 (1950).
6) Hartman, O.: *Essays, Natural Sci. Honor, Captain Allan Hancock*, pp. 39–60 (1955),
7) ——: *Allan Hancock Pac. Exped.* **15**, pp. 1–142 (1957)
8) ——: *Allan Hancock Found, Publ. Occas. Paper*, **23**, pp. 1–353 (1959).
9) Moore, J: *Acad. Nat. Sci. Phila. Proc*, **55**, pp. 401–490 (1903).
10) Fauvel, P.: *Arch. Zool. Exp. Gen.*, **58**, pp. 315–473 (1919).
11) ——: *Faune de France*, **5**, pp. 1–488 (1923).
12) McIntosh, W.: *Challenger Rep.*, **12**, pp. 1–554 (1885).
13) Southern, R.: *Mem. Indian, Mus.*, **5**, pp. 565–659 (1921).
14) Izuka, A.: *Jour. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo*, **30**, pp. 1–251 (1912).
15) Okuda, S.: *Bull. Biogeo. Soc. Japan*, **10**, pp. 1–24 (1940).
16) ——: *Zool. Mag.*, **50**, pp. 122–131 (1938).
17) Hartman, O.: *Mem. Soc. Cubana Hist. Nat.* **16**, pp. 89–104 (1942).

DESCRIPTION OF TWO NEW SPECIES OF PILARGIIDAE (ANNELIDA: POLYCHAETA) FROM THE SETO-INLAND-SEA

Ryonosuke KITAMORI*

(*Received Aug. 11, 1960*)

From the materials collected by EKMAN-BIRGE grab sampler through the investigations of Seto-Inland Sea, two new species were found out. Up to the present only three species belonged to the Pilargiidae (*Ancistrosyllis gracilis* HESSLE[1], *Otopsis longipes pacifica* USCHAKOV[2] and *Pilargis verrcosa pacifica* ZACHS[3]) have been recorded from the adjacent waters of Japan. The present species differs from all of them and other species of the Pilargiidae[4),5)].

The author is indebted to Dr. T. HANAOKA, Director of the Inland Sea Regional Fisheries Research Laboratory and to Dr. H. UTINOMI of the Seto Marine Biological Laboratory, Kyoto University, for their kind guidance and he wishes to acknowledge the cooperation given by the staff of the Inland Sea Regional Fisheries Research Laboratory.

1. Ancistrosyllis hanaokai sp. nov.

This species, of which many individuals were taken, was found in the coastal bottom of Seto-Inland-Sea. Complete individuals are 12–22 mm. long and consist of 80–110 segments. Body width reaches maximum at about the 10th segment and then gradually tapers towards the tail, and the body becomes narrower rapidly to the third setigerous segment as *A. constricata* SOUTHERN[6]. The body depressed and parapodia come to be relatively more conspicuous on the posterior half of the body due mainly to the great dorsal projecting hooks and the long dorsal cirri (Fig. 1, E).

The prostomium has a paired lateral lobes and a median one but they are separable by external view with difficulty. Each of them gives a rise to a long tentacular antenna (Fig. 1, A). There are no eye. The posterior margin of the prostomium is nearly straight or only slightly convex. The peristomium or first segment is separated from the prostomium by a shallow groove. At its anterior, lateral margins there are two pairs of long tentacular cirri. The ventral pairs are somewhat smaller and shorter than the dorsal pair and all resemble the prostomial antennae in form. The proboscis is smooth cylindrical and muscular. It terminates distally in a circlet of 14 large, conical papillae as *A. constricata*[6] and *A. bassi* HARTMAN[5]. There is neither jaws nor other chitinous pieces.

The first setigerous segment is conspicuous by a pair of long, tentacular cirri.

* Inland Sea Regional Fisheries Research Laboratory, Ujina, Hiroshima, Japan.
(内海区水産研究所)

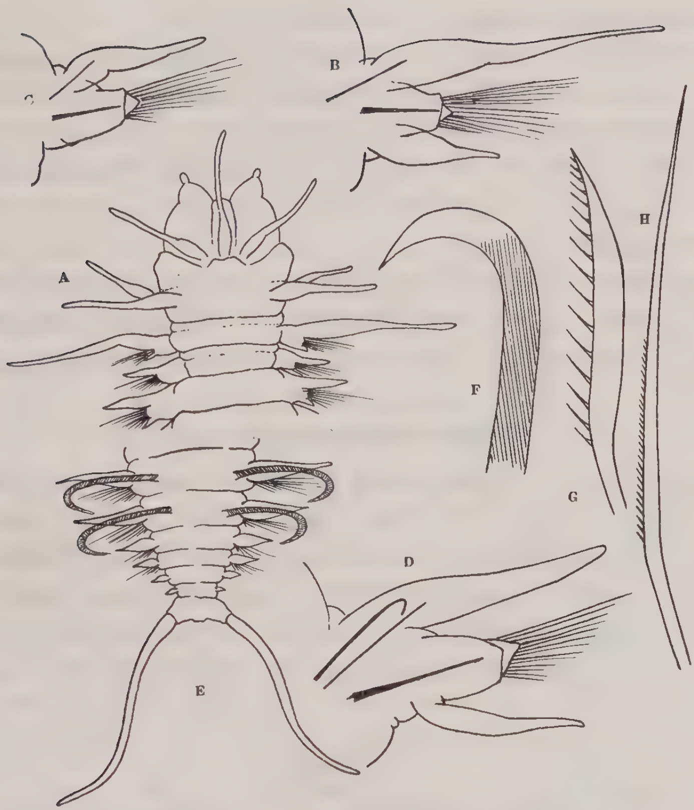


Fig. 1. *Ancistrosyllis hanaokai* sp. nov.

A. Anterior region seen from dorsal ×41 B. First setigerous segment ×51.5
C. Second setigerous segment ×51.5 D. Fourth setigerous segment ×51.5
E. Posterior region ×51.5 F. Acicular spine ×157.5 G. Shorter seta ×312.5
H. Long slender seta ×312.5

The ventral cirri are much smaller. The setigerous lobe is provided with two kinds of setae (Fig. 1, A, B). The second foot is very minute, and there is no ventral cirri. Its notopodium` is represented by a long cirriform, dorsal cirrus and a yellow, translucent aciculum that extends into the cirrus. Its neuropodium is well developed with an acicular lobe and a full fascicle of simple setae (Fig. 1, C). The setae in the upper group are longer than those in the lower group (Fig. 1, G, H). In typical median parapodia the notopodia are low inconspicuous mounds located at the dorsal base of the long dorsal cirrus: they have a few scattered epithelial papillae as *A. constricata* and *A. bassi*. Dorsal and ventral cirri are long cirriform throughout the body but the dorsal ones are much larger. Furthermore in posterior parapodia the proportional lengths of dorsal and ventral cirri increase (Fig. 1, E). Notoacicular spines (Fig. 1, F) are visible on fourth setigerous segment. They increase rapidly in size in median segments of the body and come to project a considerable distance in the posterior end. The posterior end terminates in a pair of long, slender cirriform structure which is

about as long as the last ten segments (Fig. 1, E).

This species greatly resembles *A. constricata* SOUTHERN (1921)[6] found from Chilka Lake in many respects, but differs in the following characters: 1) notopodium aciculum is present in the first setigerous segment: 2) notoacicular spines are visible in fourth setigerous segment. And also this species differs from other ten species of this genus[1),4),5),7),8),9),10),11),12)], in the following character: body gets narrower rapidly at the third setigerous segment.

It is an expression of the author's gratitude to dedicate this species to Dr. Tasuku HANAOKA. *A. hanaokai* widely distributes in Seto-Inland-Sea and also has been found in Tokyo Bay, Matsushima Bay, Yatsushiro Bay and Minamata Bay.

2. Pilargis matsunagaensis sp. nov.

The original account of the interesting species was based on incomplete six specimens, which consist of three anterior parts, two posterior parts and a fragment, taken by the EKMAN-BIRGE grab sampler in Matsunaga Bay, Hiroshima Prefecture, in 1953. The largest anterior part measures 22 *mm.* long and consists of 68 segments. It measures 2 *mm.* wide at its broadest width which corresponds to the part from 40th segment to 50th segment of the sample tapering gradually to both extremities. Body is long,

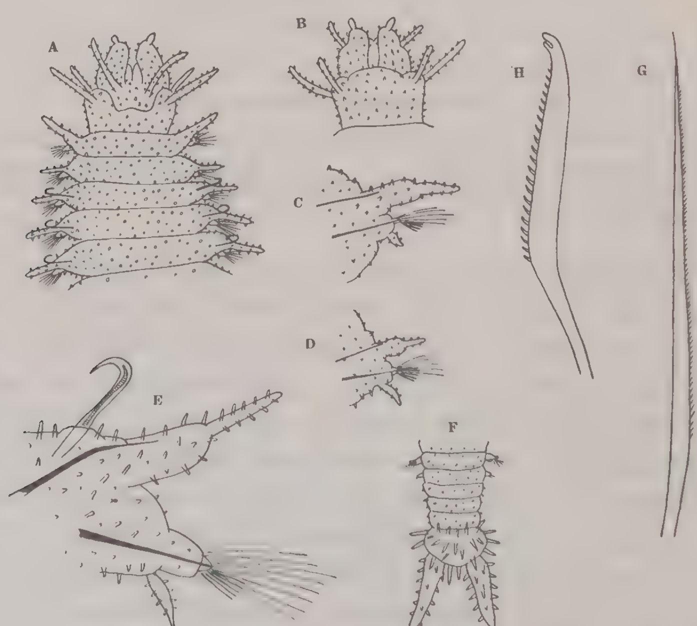


Fig. 2. *Pilargis matsunagaensis* sp. nov.

A. Anterior region seen from dorsal ×41 B. Prostomium seen from ventral ×41
C. First setigerous segment ×51.5 D. Second setigerous segment ×51.5
E. Typical biramous parapodium of 40th segment ×51.5 F. Posterior region ×51.5
G. Long slender seta ×312.5 H. Shorter falcated seta ×312.5

flattened and ribbon-like. Body color preserved in formalin is gray or dark gray. The surface epithelium is more closely papillated (Fig. 2, A).

Prostomium is small and inconspicuous. It is provided with a pair of small biarticulated palpi, which are separated from each other at a median portion, and with a pair of simple antennae. Prostomial eye is absent (Fig. 2, B). In these specimens proboscis did not protruded and could not be ascertained by dissection. Peristomium is provided with two pairs of tentacular cirri, of which the dorsal ones are slightly larger. Peristomium is separated by a shallow groove from prostomium.

The second (or first setigerous) segment is provided with dorsal and ventral cirri and a setigerous lobe between the cirri (Fig. 2, C). Its parapodium is biramous having the notopodium with a conical cirrophore, the length of which is longer than its width. The third segment resembles to the second segment (Fig. 2, D). The typical true biramous parapodium appear on each posterior segment than the second setigerous segment. Notopodium has a dorsal cirrophore with a long dorsal cirrus. Neuropodium is provided with a small ventral cirrus. It is provided with a respective aciculum in both notopodium and neuropodium. Notopodium has a curved heavy acicular spine. Aciculum and acicular spine are located above the dorsal cirrophore and acicular spine disappears on 20 segments of posterior end (Fig. 2, E). Neuropodium is provided with one aciculum and two kinds of simple whorled setae. One of the neurosetae is long, slender and distally pointed and the other is shorter distally falcated with flurcated tip (Fig. 2, G, H).

At the posterior end parapodium becomes very small and is absent on last three segments. Pygidium has a pair of short cirri (Fig. 2, F).

P. matsunagaensis n. sp. has an acicular spine in notopodia, showing a character of genus *Ancistrosyllis*, but it should belong to the *Pilargis* through following reasons: 1) present species has a pair of antenna in the prostomium, 2) epithelial papillae are scattered over the most parts of its body.[4] Only two species (*A. groenlandica* McIntosh[7], *A. gracilis* Hessle[1]) belonged to genus *Ancistrosyllis* have papillated epithelium but the present species differs from these two species in the following points: 1) dorsal eye absent, 2) shorter setae distally falcated with filurcated tip are present on neuropodium, 3) dorsal cirrophore presents. The present species is also at once recognizable from each of the other six species of the genus *Pilargis*.[3),4),9),13),14]

References

1) Hessle, C.: *Ark. Zool. Stockholm*, **17**, pp. 1-36 (1925).
2) Uschakov, P.: *The polychaeta from the Far-Eastern-Sea of the USSR*, pp. 1-439 (1955).
3) Zachs, I.: *Inst. Hydrobiol. Explor. Meers. USSR*, **14**, pp. 125–137 (1933).
4) Hartman, O.: *Allan Hancock Pacific Exped.*, **10**, pp. 483–523 (1947).
5) ——: *Allan Hancock Found. Publ Occas. Paper*, **23**, pp. 1-353 (1959).
6) Southern, R.: *Mem. Ind. Mus.*, **5**, pp. 565–660 (1921).
7) McIntosh, W. C.: *Trans. Linn. Soc. London*, **1**, pp. 499–511 (1878).

8) FAUVEL, P.: *Arch. Zool. Exp.* **58**, pp. 315–473 (1919).
9) ——: *Faune de France*, **5**, pp. 1–488 (1923).
10) TREADWELL, A. L.: *Amer. Mus. Nov.* **1138**, pp. 1–4 (1941).
11) EHLERS, E.: *Jena, Gustav Fischer*, pp. 1–168 (1908).
12) FRIEDRICH, H.: *Zool. Anz.* **145**, pp. 171–177 (1951).
13) MONRO, C.: *Proc. Zool. Soc. London*, **1**, pp. 1–96 (1933).
14) DAY, J.: *Ann. Natal Mus.* **14**, pp. 59–129 (1957).

ヒイラギの卵発生と仔魚前期

藤　田　矢　郎

(1960 年 8 月 12 日受理)

EGG DEVELOPMENT AND PRELARVAL STAGES OF A SILVER-BELLY, *LEIOGNATHUS NUCHALIS* (TEMMINCK et SCHLEGEL)

Shiro FUJITA*

Leiognathus nuchalis (TEMMINCK et SCHLEGEL) is a common leiognathid fish of Japan, mainly distributed along the coasts of south-western part of the territory as well as in Korea and China. It appears to inhabit the shallow coastal regions. The spawning season seems to extend from the middle of May to the end of July in northern Kyushu.

On June 22, 1959, the author carried out the artificial insemination of this fish at Moji City, Kyushu, and observed the egg development and hatched larvae.

The egg is bouyant and colorless, spherical in shape measuring 0.6~0.65 mm in diameter, with a single oil-globule measuring 0.12~0.15 mm. The yolk and egg-membrane have no particular structure.

Hatching took place in 30 hours and 45 minutes at the water temperature 22.5~23.9°C. In the course of development, melanophores and xanthophores appeared on the embryonal body and surface of oil-globule in 2~3 hours before hatching (Figs. 1~9).

Newly hatched larva (Fig. 10), measuring 1.4 mm in total length, had $8-9+17=25-26$ myotomes (the number of vertebrae of this fish is $10+14=24$).

The hatched larvae were floating in the water near the surface with the yolk upwards. The melanophores were seen on the back side from head to tail and on the surface of oil-globule. The xanthophores were distributed on the head, trunk, middle part of the tail forming cross bands, and on the surface of oil-globule and yolk surface around the oil-globule. Five or six hours old larvae (including the one of Fig. 11) were 1.63~1.95 mm in total length. The groups of xanthophores appeared on the head, back of the front part of trunk, back and abdominal side behind the anus and middle of the tail. 39 hours old larva was 2.1 mm in total length. The yolk was not yet wholly absorbed. The eyes were becoming black. They were floating vertically in the water with the head downwards. The larvae, 65 hours after hatching (Fig. 13), nearly consumed the yolk and reached 2.15~2.20 mm in total length, with the anus being slightly shifted forwards. The number of myotomes was $6+19=25$. The larvae swam freely in the water.

ヒイラギ *Leiognathus nuchalis* (TEMMINCK et SCHLEGEL) はヒイラギ科 Leiognathidae に属し，本州中部以南の内湾性の沿岸に多く，定置網，底刺網などの漁獲物中に普通に見られる。ヒイラギ科魚類 (*Leiognathus splendens*[1)], *L. fasciatus*[2),3),4)], *L. insidiator*[6)], *L. leniolatus*[6)], *L. ruconius*[7),8),9)], *L. bindus*[5)], *L. blochii*[7),10)], *L. equulus*[10)] など) の幼期については多くの研究があるが，本種の卵発生および孵化仔魚についてはまだ明らかにされていない。筆者は 1959 年夏門司市部崎燈台沖のキス一本釣に混獲された本種の親魚を用い，人工授精を行ない，孵化仔魚を得て約 5 日間飼育観察したので卵発生と仔魚前期

---

* 九州大学農学部水産学教室 (Fish. Lab. Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka City). 本研究の一部は農林漁業試験研究費補助金（内田恵太郎）によつた。

** 本種の方言　トンバ，トンマ（福岡市附近）。カガミトリ（下関市吉見の漁師）。ガガナキ（門司市附近の漁師）。

について報告する。

本研究に当り御指導を賜り，かつ原稿の御校閲を戴いた内田恵太郎前教授に深謝の意を表する。

産卵および成熟卵巣

北九州地方では本種の産卵期は5月中旬から7月下旬に亘り，産卵盛期は6月から7月上旬と考えられる。熟卵を持つた成魚の卵巣内には，卵径 0.6～0.65 mm の完熟卵と 0.2～0.3 mm およびそれ以下の卵径の未熟卵があり，卵巣を切開すると前者だけ流出する。完熟卵は卵巣卵の一部である。全長 105 mm の1例では卵径 0.6～0.65 mm の完熟卵 13,814 個，0.2～0.3 mm の未熟卵 21,204 個が数えられた（本種では左右の卵巣の壁が互に癒着しており，左右別々に卵数を計測することは容易ではないので左右の卵巣卵全部の合計値である）。全長 104 mm の親魚で完熟卵 15,509 個，112 mm のもので 17,154 個が数えられた。

完熟卵巣内の卵の状態から考えて，同一雌魚による放卵は少くとも1回以上行なわれるのではないかと想像される。

卵および卵発生

卵　受精卵は球形の分離浮性卵で油球1個を有する。卵径 0.6～0.65 mm，油球径 0.12～0.15 mm。卵膜腔は狭い。卵膜および卵黄に特殊な構造はなく，卵黄，油球ともに無色透明である。

人工授精　1959 年 6 月 22 日 12 時 55 分，雄全長 102 mm，雌 125 mm の親魚を用い，乾導法によつて行なつた。授精後海水の表面に浮んだ卵はほとんど全卵受精していた。

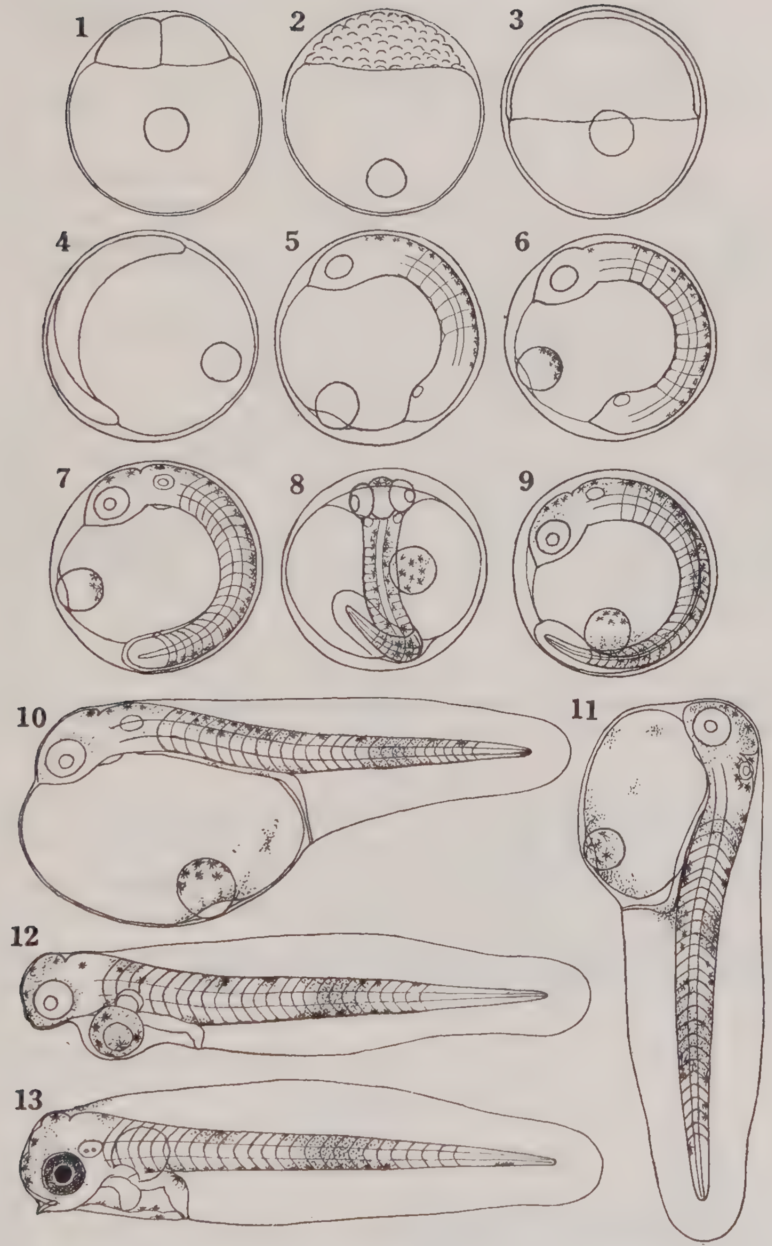
卵内発生　卵発生の諸経過は一般硬骨魚卵と大差はない。卵発生中の飼育水温は 22.8～23.9°C であつた。卵発生の途中，胚体上に黒色胞と黄色胞，油球上に黒色胞と黄色胞が現われるが，卵黄上には油球周辺に孵化前に黄色胞が僅かに現われるだけである。

授精後1時間で第1分割，1時間 15 分で第2分割 (Fig. 1)，1時間35分で第3分割，1時間 50 分で第4分割，3時間 35 分で Morula 初期 (Fig. 2)，7時間 35 分後には Blastula 期に達した。10 時間後には胚皮は卵黄の約 1/2 を掩い (Fig. 3)，14 時間 20 分後には原口が閉じ，胚体の原基が現われている (Fig. 4)。17 時間5分後には胚体上に筋肉節 5～6 個，眼胞および KUPFFER 氏胞を生じ，胚体背面に黒色胞多数が見られる。油球は卵黄表面からその一部が突出している (Fig. 5)。19 時間5分後には筋肉節 11～12 個を生じ，油球上に黒色胞が現われている (Fig. 6)。21 時間5分後には筋肉節 14～15 個が数えられた。24 時間後には筋肉節 21 個，眼球および耳胞を生じ，頭部から尾部にかけて胚体上に黄色胞が多数現われている。KUPFFER 氏胞は消失しはじめている (Fig. 7)。26 時間 35 分には筋肉節 25～26 個が数えられ，油球上に黒色胞のほか黄色胞を生じている (Fig. 8)。授精後 30 時間 45 分で最初の孵出が見られ，その後 30 分以内にほとんど全卵孵化した。孵化直前には胚体は卵内の 8/10～9/10 を周り，油球の周辺の卵黄上に黄色胞が現われている (Fig. 9)。

孵化仔魚

孵化直後の仔魚 (Fig. 10) は全長 1.4 mm で卵黄長径 0.6～0.65 mm，油球（径 0.1～0.15 mm）は卵黄の中央よりやや後方または卵黄後端下に位置し，その一部が卵黄表面から突出している。筋肉節数は 8～9+17＝25～26（成魚の脊椎骨数 10＋14＝24）で，肛門は魚体の中央より僅かに後方に開く。黒色胞が頭頂から尾部に至る魚体背面に散在し，油球上にも見られる。黄色胞は魚体の頭部，胴部，尾部，油球上および油球周辺の卵黄上に分布し，とくに尾部中央部では黄色胞帯を形成している。仔魚膜鰭上には色胞は全くない。孵化直後の仔魚は卵黄を上にして水面に仰臥の姿勢で浮びほとんど運動しない。孵化後 2～3 時間経過すると容器の中層に卵黄を上にして仰向けに静止する個体が多くなる。

孵化後 5～6 時間の仔魚 (Fig. 11) は全長 1.63～1.95 mm，卵黄径 0.49～0.53 mm，油球径 0.15～0.17 mm，筋肉節数 7＋18～19＝25～26 で，肛門の位置は孵化直後に比して前進し，魚体の前方から 2/5 よ



Developing eggs and hatched larvae (**fine dots show the xanthophores**)

1) 2-cell stage, 1 hr. 2) Morula stage, 3 hr. 35 min. 3) 10 hr. 4) Formation of embryonal body, blastopore closed, 14 hr. 20 min. 5) 5-myotome stage, eye balls and Kupffer's vesicle formed, chromatophores appeared on the embryonal body. 6) 12-myotome stage, 19 hr. 5 min. 7) 21-myotome stage, xanthophores appeared on the embryonal body, 21 hr. 5 min. 8) 26-myotome stage, 26 hr. 35 min. 9) Just before hatching, 30 hr. 30 min. 10) Newly hatched larva, 1.4 mm in total length. 11) 6-hour-old larva, 1.85 mm. 12) 33-hour-old larva, 2.1 mm. 13) 65-hour-old larva, 2.2 mm.

りやや後方に開口している。胴部中央部，肛門直上の腹面および背面に小さな黄色胞の集団があり，尾部中央部には黄色胞帯が見られる。卵黄上に黄色胞が多数現われているが，黒色胞はない。魚体上の黄色胞の分布状態はこの時期にほぼ完成し，その後大きな変化は見られない。

孵化後 16 時間の1個体では全長 1.85 mm，筋肉節 8 + 17 = 25 が数えられ，胸鰭の原基が現われはじめている。

孵化後 33 時間の仔魚 (Fig. 12) は全長 2.05～2.20 mm，卵黄径 0.2～0.22 mm，油球径 0.1 mm，筋肉節 7 + 18 = 25 が数えられた。肛門は魚体の前方から約 7/20 のところに開口する。小さな黒色胞が頭部，魚体背面，尾部腹面および卵黄上に散在する。黄色胞は目の周辺，胸鰭の基底部背腹両面，肛門直上腹面とその背面，尾部中央部および卵黄上に集つている。

39 時間後の仔魚は目に黒色胞が現われはじめている。卵黄は吸収しつくされてはいない。多くの個体は水の中層に頭を下にして垂直の姿勢で浮いている。

65 時間後の仔魚 (Fig. 13) は卵黄を吸収しつくし，全長 2.15～2.20 mm に達し，筋肉節 6 + 19 = 25 が数えられる。肛門は魚体の前方から約 3/10 のところ，第6筋肉節下に開口している。目は黒くなつている。黒色胞が頭部，魚体腹面および腹腔壁下面にあり，尾部腹面では腹面腹中線に沿つて点状の黒色胞が1列にならんでいる。魚体背面の黒色胞は小点状になり，数もいちぢるしく少くなつている。頭部，肩部，肛門直上腹面とそれよりやや後方の背面および尾部中央部に黄色胞帯をなしている。仔魚は容器の中層，下層を正位の姿勢で自由に游泳している。孵化後約5日（卵黄吸収後約2日）で全部斃死した。黄色胞の褪色が起つていたほか体制に変化は見られなかつた。

文　献

1) Arora, H. L.: Ind. Pac. Fish. Coun. 3rd Meet. Madras, Tech. Pap. 33 (1951).
2) Bal, D. V. and Pradhan, L. B.: Govt. Central Press, Bombay (1945).
3) ——————, ——————: ibid. (1946).
4) ——————, ——————: ibid. (1947).
5) Chacko, P. I.: Proc. Ind. Acad. Sci., **31**, 3 B, 162～174 (1950).
6) John, M. A.: J. Zool. Soc. India, **3**, 1, 38～66 (1951).
7) Nair, R. V.: Proc. 3rd Ind. Sci. Congr. Pt. 3 (Abstract), 127 (1946).
8) ——————: Proc. Ind. Acad. Sci., **27**, 4 B, 87～91 (1948).
9) ——————: ibid. Sci., **35**, 6 B, 225～244 (1952).
10) Whitehouse, R. H.: Madras Fish. Bull., **17**, 3, 49～103 (1923).

魚類筋肉内燐化合物の生理化学的研究—I.

魚筋肉の各種燐酸化合物含量

中 野 智 夫・土 屋 靖 彦

(1960 年 6 月 8 日受理)

STUDIES ON THE PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY OF PHOSPHORUS COMPOUNDS IN FISH MUSCLE—I.

DISTRIBUTION OF VARIOUS PHOSPHORUS COMPOUNDS IN FISH MUSCLE

Tomoo NAKANO* and Yasuhiko TSUCHIYA**

Distribution of some kinds of phosphorus compounds in muscle were measured with given individuals of several fish species. With mackerel and carp under keeping an inquiry was made also into the influences of rearing conditions on the contents of these compounds in muscle. The table appended shows the results which may be summarized as follows:

Distribution of phosphorus compounds in fish muscle varies widely from species to species of fishes and also according to the kind of muscle, for instance, the ordinary muscle and the dark muscle, and the position in body of the muscle.

These results may be interpreted as a reflex of the sum of innate peculialities of the particular fish species and the fluctuations in quantity of high energy phosphorus compounds in living tissues.

魚類筋肉内高エネルギー燐化合物に関する既往の研究[1]は，死後筋肉内におけるその量的，質的変化ならびに致死条件とそれとの連関性の解明という点に主眼がおかれていたものといえる。本研究において著者らは，さらに致死処理以前に魚が棲息する環境条件が生活時および死後における筋肉内燐化合物の上にいかなる影響を及ぼすかについて生理化学的な検討を加えた。

本報では数種魚の筋肉内におけるこれら燐化合物量を測定し，併せてサバおよびコイを用いて飼養条件が筋肉内燐化合物量の上にいかに影響するかにつき，若干の検討を加えた結果について報告する。

本研究を行なうにあたり，試料魚の供与にあずかり実験に際して種々御便宜をいただいた宮城県松島水族館長高橋良夫氏をはじめ館員諸氏に厚く御礼申し上げる。

実 験 の 部

実験材料:

[I] 海 産 魚

サバ *Scomber japonicus* HOUTTUYN, カツオ *Katsuwonus vagans* LESSON, アサヒアナハゼ *Pseudoblennius cotoides* RICHERDSON, チダイ *Erynis cardinalis* TANAKA, ボラ *Mugil cephalus* LINNÉ, ウグイ *Tribolodon hakuensis hakuensis* GÜNTHER, スズキ *Lateolabrax japonicus* CUVIER, メナダ *Liza haewatocheila* TEMMINCK et SCHLYEL.

[II] 淡水産魚

コイ *Cyprinus carpio* LINNÉ, フナ *Carassius auratus* LINNÉ.

* 聖霊女子短期大学家政学教室 (Department of Home Economics, Holy Ghost Junior College).
** 東北大学農学部 (Fac. of Agr. Tohoku Univ.).

Table 1. Distribution of various phosphorus

Kind of Fish	No.	Body length cm	Body weight gr.	Region of Body	I–P mg% O. M.	I–P mg% D. M.	C–P mg% O. M.	C–P mg% D. M.	7′–P mg% O. M.	7′–P mg% D. M.
Mackerel.	1	16.7	64.7	Neck	238.9	90.3	16.6	15.0	10.3	9.2
	2	14.5	33.6	〃	203.3	136.3	2.1	6.0	2.3	1.5
	3	16.7	57.8	〃	221.6	97.6	1.4	1.8	3.1	1.5
	4	14.5	33.5	〃	189.5	116.9	0	+	0.7	0.7
	5	18.5	46.0	〃	221.6	105.6	2.5	1.4	4.6	2.8
	6	19.0	48.5	〃	235.4	106.8	+	1.4	0	0.9
Bonito	1			Neck A	221.6	127.3	+	2.5	0	7.9
				Neck B	230.8	129.8	0	0.5	0	0.6
				Tail A	222.9		0		0	
				Tail B	227.7		0		0	
	2			Neck A	224.7	158.8	+	+	2.9	
				Neck B	230.2	158.5	0	+	0	
				Tail A	206.2		0		+	
				Tail B	213.9		0		0	
	3			Neck	210.0	136.3	+	3.1	20.5	23.2
	4			〃	242.0	136.3	0	0	0	0
Sea bream				Neck	200.1		3.6		30.3	
Goby				Neck	134.3		1.0		33.7	
Dace				Neck A	144.9		3.5		15.2	
				Neck B	152.7		2.2		1.6	
				Neck C	148.5		1.4		1.1	
				Tail A	209.4		4.7		7.6	
				Tail B	210.0		3.2		8.6	
				Tail C	214.1		1.9		0.9	
Grey mullet				Neck A	105.4	53.8	0	1.8	0	9.8
				Neck B	107.4		0		0	
				Tail A	80.8		0.7		0	
				Tail B	59.1		0		0	
Sea bass				Neck A	113.0		1.5		26.0	
				Neck B	111.4		1.5		22.9	
				Neck C	119.7		1.1		5.4	
				Neck D	206.2		0		0	
				Tail A	106.9		1.8		29.4	
				Tail B	103.8		1.8		29.9	
				Tail C	114.5		1.4		29.0	
				Tail D	121.0		0		0	
Mullet				Neck A	80.1	49.5	3.5	2.5	0	1.3
				Neck B	83.8	53.2	1.8	2.1	0.9	1.5
				Neck C	97.6	53.8	1.1	1.5	0	0.9
				Neck D	87.0	51.9	0	+	0	0.6
				Tail A	108.3		3.9		3.7	
				Tail B	116.6		2.3		0.1	
				Tail C	119.0		1.5		0.4	
				Tail D	110.5		0		0	
Carp	1			Neck A	127.1	76.0	3.8	1.0	20.1	17.4
				Neck B	182.5	93.1	0	0	0	0
	2			〃 A	142.1	65.1	3.1	1.8	16.8	20.2
				〃 B	152.7	67.9	0	0	3.0	6.1
Gibel.	1	12.0	41.5	Neck	135.1	109.2	11.3	6.8	33.4	22.1
	2	13.6	58.3	〃	129.5	102.6	12.4	7.7	36.1	20.4

O. M. : Ordinary muscle, D. M. : Dark muscle.

compounds in fish muscle.

T-P mg% O. M.	T-P mg% D. M.	Remarks
355.3	351.4	Assayed immediately after catch.
406.5	305.4	〃 after rearing in aquarium for 7 hrs..
354.4	346.5	〃 after rearing in aquarium for 24 hrs..
323.7	287.1	〃 after rearing in aquarium for 48 hrs..
394.2	218.1	〃 after rearing in a corf for 96 hrs..
401.6	211.1	Killed by striking on the head and left at room temperature for 4 hrs..
314.6	295.0	A: Immediately after being landed.
320.7	293.2	
349.1		B: After leaving for 4hrs. at room temperature.
369.4		
339.1	329.9	The notations are the same with those mentioned above.
342.2	329.9	
323.8		
326.9		
390.0	295.0	Marketed material.
297.5	263.7	Marketed material (stored for 1 year at −10°C).
351.4		Immediately after catch.
271.8		Immediately after catch.
269.6		A: Immediately after killing by striking on the head.
269.9		B: The same fish with A but after leaving for 3 hrs. at 5°C.
272.1		C: The same fish with B but after further leaving at 5°C for 3 hrs..
141.1		
247.2		
244.5		
135.2	155.5	A: Immediately after killing by striking on the head.
132.9		B: The same fish with A but after leaving for 3.5 hrs. at 5.5°C.
165.2		
166.4		
204.4		A: Immediately after killing by striking on the head.
205.4		B: The same fish with A but after leaving for 3hrs. at 5°C.
204.4		C: The same fish with B but after further leaving at 5°C for 3 hrs..
232.5		D: The same fish with C but after further leaving for 18 hrs. at −4 ∼ 5°C.
232.2		
233.2		
234.0		
240.3		
116.8	134.5	A: Immediately after killing by striking on the head.
115.6	130.9	B: The same fish with A but after leaving for 3 hrs. at 8°C.
116.5	133.4	C: The same fish with B but after further leaving for 3 hrs. at 8°C.
134.5	158.6	D: The same fish with C but after further leaving for 18 hrs. at −6 ∼ 8.2°C.
146.8		
159.6		
158.9		
178.8		
253.8	225.0	A: Immediately after killing by striking on the head.
242.5	248.0	B: The same fish with A but after leaving for 12hrs. at room temperature.
204.4	204.4	A: Immediately after killing by striking on the head.
208.4	205.9	B: The same fish with A but after leaving for 3 days at 0°C.
287.0	212.5	Immediately after killing by striking on the head.
292.4	189.9	

実験方法:

[I] 魚肉から酸溶性区分の抽出[2]

供試魚は頭部撲殺し，できるだけ手早く 2gr. を採肉し 10% 三塩化醋酸溶液 5 ml とともにホモヂナイザーに入れ 3,000 RPM で 1 分間低温で細挫する。これを低温下に 10 分間放置した後，吸引しながら無灰沪紙ですみやかに沪過し，さらに沪過残渣を 20 ml の 5% 三塩化醋酸溶液でよく洗い，再び沪過する。両沪液を合してこれに n-NaOH を加えて pH を 8.0 に調整し 50 ml 定容フラスコに移し蒸留水を加えて 50 ml に定容する。

[II] 酸溶性燐化合物量の測定法

1) 無機燐酸態燐量 (IP)

上記定容液の一定量につき ALLEN 法[3]によつて比色定量した。なお，この際求められる値はそのなかにクレアチン燐酸態燐をも含むので表示される値はクレアチン燐酸態燐量をさし引いたものである。

2) アデノシン三(二)燐酸態燐量 (7′P)[2]

上記定容液一定量を n-HCl で 100°C，7 分間加水分解したさいに遊離する燐量でこれを示した。

3) クレアチン燐酸態燐量 (CP)

上記定容液一定量につき，EGGLETON and EGGLETON の方法[4] によつて定量した。

[III] 筋肉内総燐量 (TP)[3]

0.5gr. の肉を小型分解瓶にとり過塩素酸で加水分解し，ALLEN 法によつて比色定量した。

結果および考察

実験の結果は Table 1 に

示したごとくである。

筋肉中における各燐化合物区分の含量には下に示すように魚種や個体によつてかなりの巾が見られる。

	海産魚	淡水魚
IP :	50～240	65～140
CP :	0～ 17	1～ 12
7′P :	0～ 34	17～ 36
TP :	115～400	190～290

（単位は mg%）

また，魚体の部位や肉質の違いによる含量差も下に示すようにかなり甚だしい。

	頸部	尾部
IP :	50～240	80～210
CP :	0～ 17	1～ 5
7′P :	0～ 34	0～ 30
TP :	115～400	146～241

（単位は mg%）

	普通肉	血合肉
IP :	80～240	50～160
CP :	0～ 17	0～ 15
7′P :	0～ 36	0～ 22
TP :	115～400	130～345

（単位は mg%）

結果をさらに詳細に検討すると，洄游性で活動が活発な魚種ほど多くの IP, TP を含み，また血合肉よりも普通肉にこれらを多く含む傾向が見られる。このことは，活動が活発な魚は不活発な魚よりも筋肉内代謝もまた活発であることが必要であり，その結果筋肉内代謝においてエネルギー受授物質として重要な役割を演ずる燐酸を量的に多く必要としていることを暗示するものと考える。この実験を始めるにあたつて，筋肉内高エネルギー燐化合物量の上にも IP, TP について見られたような魚種による特徴ある値が得られるのではないかと考えたのであるが，魚種によつて異る値は得られたけれども，その数値的差異が魚種本来の含量差に基いたものかどうかの判断は困難である。その理由として，サバ，コイを用いて行なつた実験から判るように，魚筋肉内高エネルギー燐化合物は極めて変化し易い性質のものであり，また同一魚種においてもその個体差が大きく他魚種との比較を行なうことはむずかしいということなどが挙げられる。したがつて，魚種的な差の解明に目的を置くこの種の研究を行なうにあたつては，より多くの尾数について測定を試み，これを統計学的に考察することが必要であり，かつまた魚体の取扱いの上にも細心の注意が必要である。この点に関する研究結果は後報に譲る。

要　　約

（1） 数種魚筋肉内の IP, CP, 7′P, TP を測定した。その結果，魚種，肉質，魚体部位の違いによつてその含量に差が見られる。

（2） かような含量差をもたらした理由として魚種および個体の先天的含量差のほかに 7′P, CP などの高エネルギー燐化合物の飼養条件や取扱い方法などに基く変化が考えられる。

文　　献

1) Tarr, H. L. A.: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **7**, 608 (1950).
山田紀作・新間弥一郎: 本誌, **14**, 23, 41 (1948).
藤巻正生外3名: 本誌, **19**, 499 (1953).
斎藤恒行・新井健一: 本誌, **22**, 569 (1957).
Saito, T. and Arai, K.: *Nature*, **179**, 820 (1957).
斎藤恒行・新井健一: 本誌, **23**, 579 (1958).
野口栄三郎: 日本海区水研研究報告, **5**, 1 (1957).
斎藤　要・日高富男: 鹿児島大学水産学部紀要, **4**, 90 (1955).
2) Bate-Smith, E. C. and Bendall, J. R.: *J. Physiol.*, **106**, 177 (1947).
3) Allen, R. J. L.: *Biochem. J.*, **34**, 858 (1940).
4) Eggleton, G. P. and Eggleton, P. E.: *J. Physiol.*, **68**, 193 (1929).

COMPARATIVE STUDY ON COAGULABILITY OF FISH MUSCLE PROTEIN*

Usio SIMIDU** and Wataru SIMIDU***

Received June 13, 1960

The results described in the previous paper(1)(2), show the clear differences among various species of fish in the rate of protein denaturation during frozen storage. This fact, coupled with wide taxonomical range in fish leads us to expect that there might be possible differences in the nature of their muscle protein. Actually, such differences were generally accepted in the field of manufacturing fisheries products.

We have as yet few comparative studies on the fish muscle proteins. Electrophoretic studies of fish proteins revealed some differences existing among extracts of low ionic strength as well as high ionic strength of salt solutions of muscle from various species of fish(3-5), but the biochemical or practical meanings of the results are yet obscure. Shimizu and Shimidu(6) determined the composition of the protein fractions on several species of fish and observed no clear difference in relative composition of actomyosin fraction (extractable in 0.6 M NaCl solution) and the myogen fraction (extractable in 0.1 M NaCl solution) among these fishes.

In this study, some attempts have been made to reveal the difference among the muscle proteins of the several species by comparing the salt extractability and the heat coagulability of muscle proteins.

1. Heat coagulation of muscle solution

Fine sliced muscle from fish was ground in a large mortar. 100 g. of the ground muscle was treated with 1,000 ml of 0.6 M NaCl solution and extracted 2 hours with occasional stirring, After filtering through cotton cloth, each 20 ml of the solution was put into a test tube and heated in a water bath at various temperature for 5 minutes then cooled by water. The solution was centrifuged and nitrogen content was determined by the Kjeldahl method on portions of the supernatant.

Fig. 1 shows the heat coagulation curves obtained from some species of fish. The fish used consisted of mackerel (*Scomber japonicus* HOUTTUYN) weighing 205 g., and yellowtail (*Seriola quinqueradiata* TEMMINCK et SCHLEGEL) of average weight 655 g. They were supplied for testing about 10 hours after their catch. In case of yellowtail, materials were stored at −15°C. for certain periods, and the frozen muscle was sliced without pre-thawing, and macerated in salt solution as above. Thawing of muscle took place during the grinding.

* 昭和34年4月3日日本水産学会にて講演；京都大学審査学位論文の一部
** The Institute of Food Microbiology, Chiba University
*** Department of Fisheries, Kyoto University

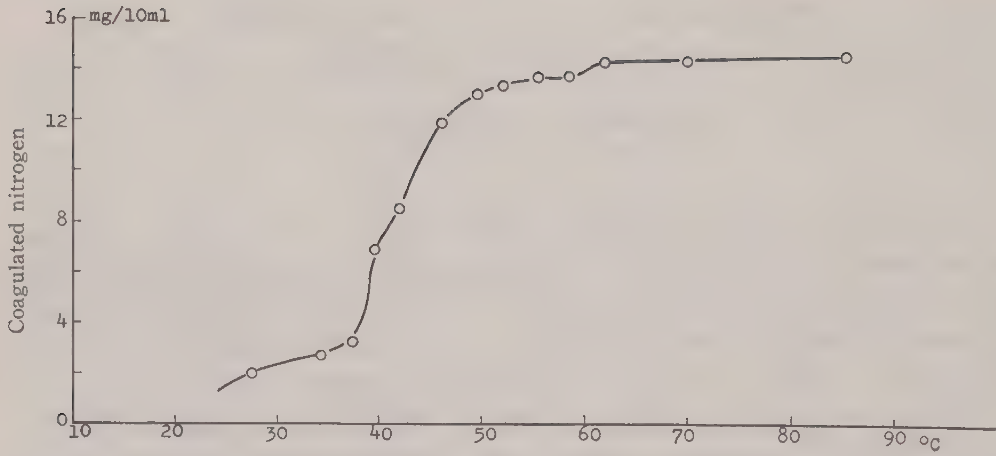


Fig. 1—A.

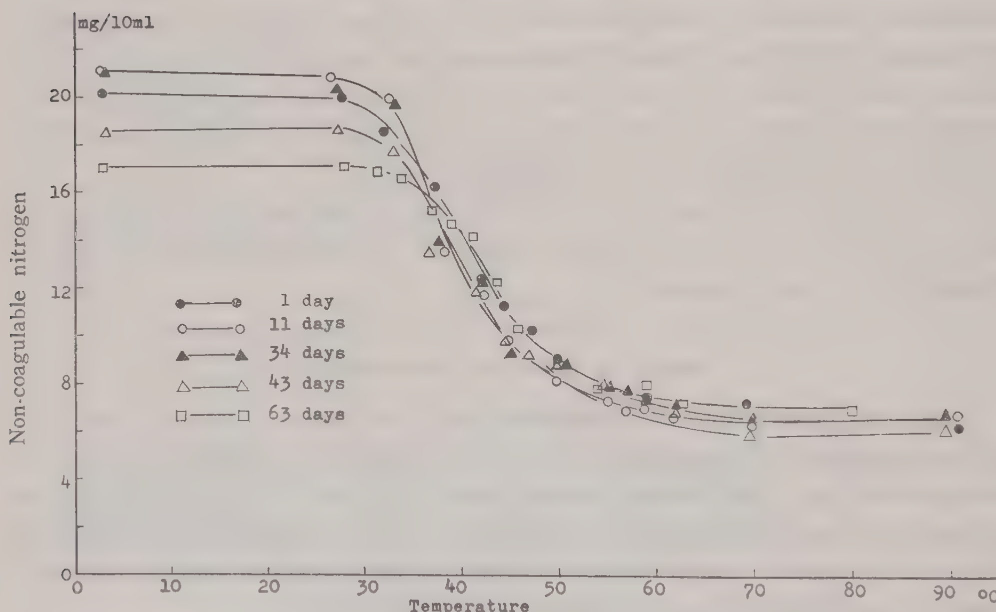


Fig. 1—B.

Fig. 1. Heat coagulation of muscle protein from a mackerel (Fig. 1-A), and from yellow tails stored at $-15°C$. (Fig. 1-B).

From Fig. 1 it is seen that most of muscle proteins precipitate between 35° and 55°C. Little change in the curves of heat coagulability was observed after frozen storage.

An entirely different result was obtained in the case of lizard-fish (*Saurida elongata* (TEMINCK et SCHLEGEL)). The fish averaging 275 g. were devided into two lots and stored at $-15°C$. and at $+5$ C. respectively. At intervals, they were tested as above. At a temperature of 30°C., muscle solution from this fish formed a homogeneous

viscous sol, and at 45°C., a small amount of granular precipitate appeared. Though the suspension became turbid, no appreciable amount of precipitate could be obtained by the centrifugation at 4,000 r.p.m.

When the muscle was suspended in 2.2 M NaCl solution and heated, a bulk of elastic gel-like clots which adhered to a glass rod was formed at a temperature of 45°C. Although a quantitative experiment was not performed, the solution tended to flocculate as the concentration of the muscle was increased.

In stored lizard-fish (Fig. 2), the muscle suspensions showed a tendency to flocculate at 45°C to 55°C., but at higher temperatures the solution became homogeneous and gave little or no precipitate by centrifugation.

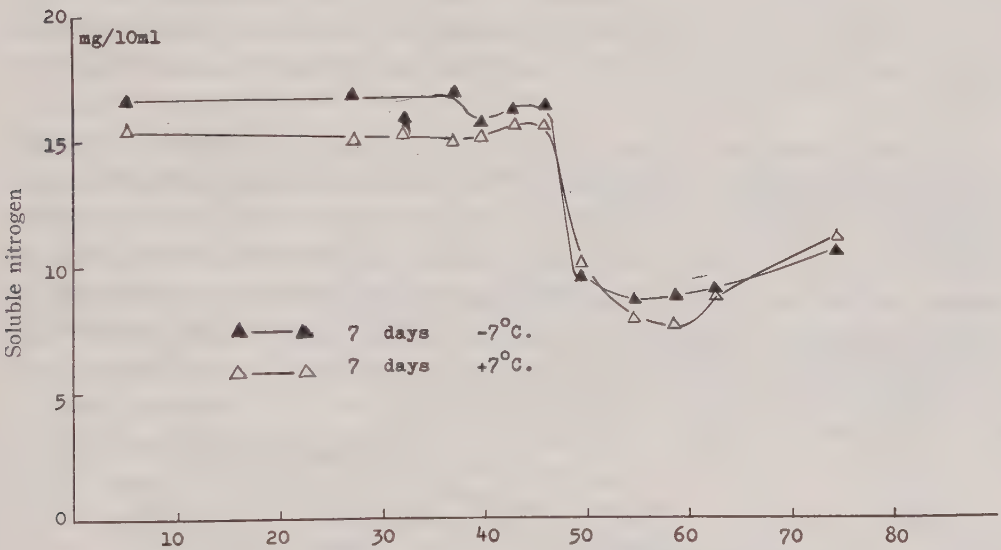


Fig. 2. Heat coagulation of muscle protein from stored lizard-fish.

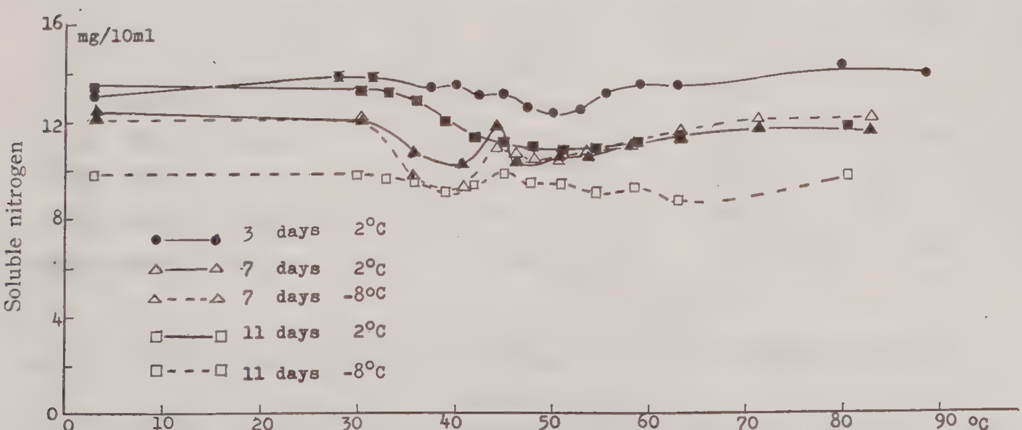


Fig. 3. Heat coagulation of muscle protein from stored lizard-fish (fine homogenized muscle suspension).

The method of grinding muscle mentioned above was unsatisfactory for preparing a fine homogeneous muscle suspension. When the muscle was homogenized in a Waring Blendor (Homogenizer) with an equal quantity of water and then dissolved in 0.6 M NaCl solution, the muscle solution of lizard-fish showed more resistance to separation by centrifugation as will be seen in Fig. 3.

2. Relations among extractability, heat coagulability and pH

It has been shown that the solubility of actomyosin depends upon salt and hydrogen ion concentration[7]. Dyer et al.[8], using cod muscle, showed that the amount of extractable protein in salt solution of $\mu=0.85$ increased sharply between pH 5.5 and 6.

The differences in heat coagulability of fishes might be explained by the effect of pH, since muscle from the red muscle fishes such as mackerel and yellowtail is known to show the marked decrease in pH value in post mortem period, often to the extent of pH 5.4[9].

In order to determine the effect of pH on both extractability and heat coagulability, the following experiment was performed. The muscle was homogenized with an equal quantity of 0.1 M NaCl solution using the Waring Blendor. To 50 g. of the muscle mush, 500 ml of 0.6 M NaCl solution was added and stirred. Each 40 ml of the muscle solution was put into a small conical flask and the pH value of the solutions were adjusted by adding 0.5 M HCl and 0.5 M Na_2CO_3 solution. After 3 hours' extraction, 10 ml of the solution were centrifuged, while the other 10 ml of the solution were

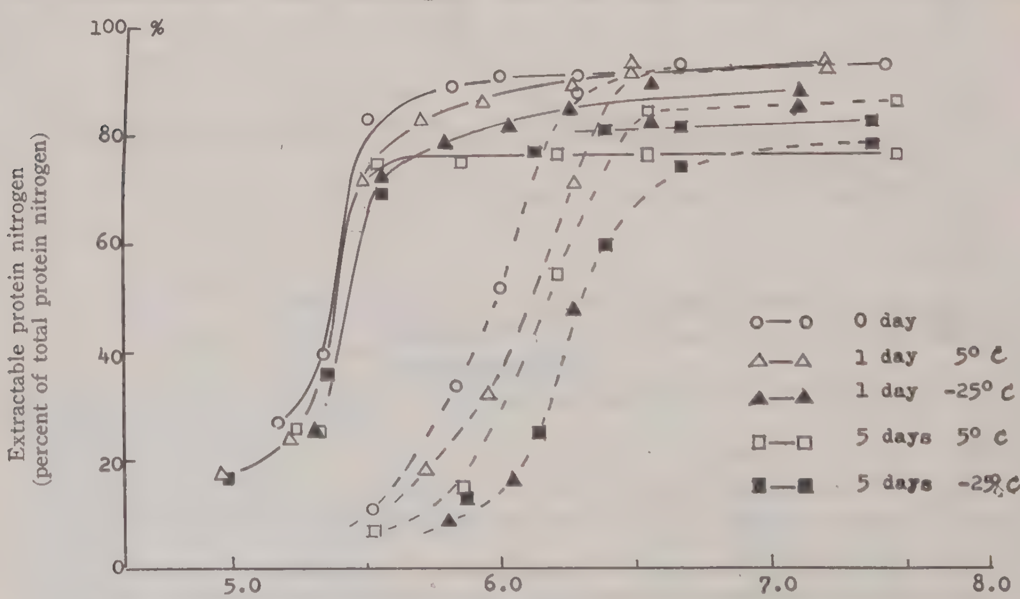


Fig. 4. Relation among extractability, heat coagulability and pH of muscle solution from horse mackerel. Solid line: Extractability before heating. Dotted line: Extractability after heating.

heated in a boiling water bath for 5 minutes at 100°C. and also centrifuged after cooling. The content of protein nitrogen was determined by the biuret method in an aliquot of the supernatant in both heated and non-heated solutions. The pH values of the solution were determined after 3 hours' extraction by means of a Shimidzu pH meter using a glass electrode.

The results obtained from the experiment on horse mackerel (*Trachurus japonicus* (TEMMINCK et SCHLEGEL)) are shown in Fig. 4. Material used consisted of fish with weights ranging from 12 to 38 g. and averaging 26 g. They had been caught in the summer by angling and were used for the experiment immediately after killing or after storage at 5°C. and −25°C. for a certain period.

From Fig. 4, it is clear that after only 1 day's storage, especially frozen storage, a considerable change was produced in heat coagulability; the pH range in which most of the proteins precipitated was raised. In the untreated intact fish muscle, such changes will be distinctly emphasized, since the pH of muscle decreases in the earlier period of storage.

The results from similar experiments on some other species of fish are shown in Fig. 5. These results show that there are no marked differences in the effect of pH on the protein extractability among the species of fish investigated. These results are essentially in agreement with that of Hamoir (5) who showed that the curve did not depend on the species of fish.

In contrast to the extractability, the heat coagulability of these protein solutions varies considerably. Muscle solutions of mackerel and yellowtail coagulated at a pH of 6.6 or higher, but those of lizard-fish and croaker (*Pseudosciaena manchurica*

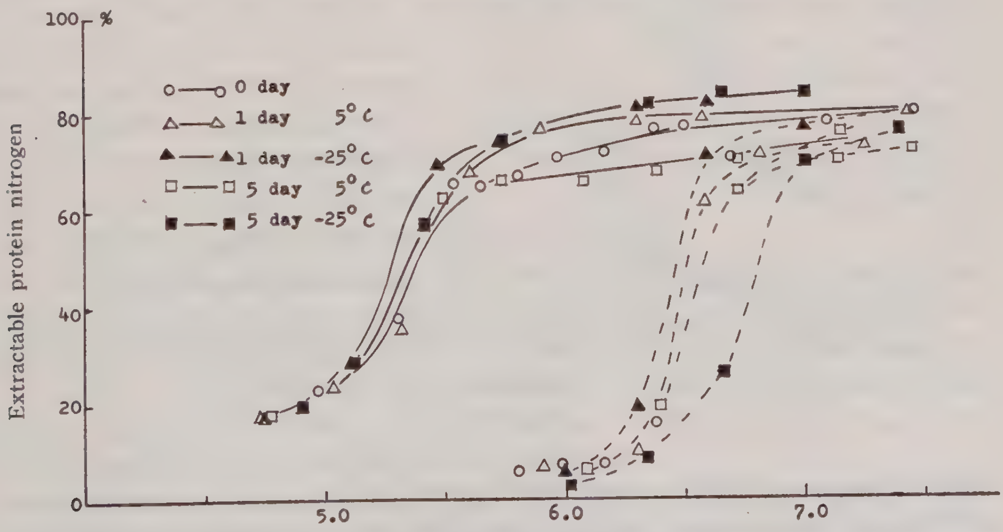


Fig. 5—A

Fig. 5. Relation among extractability, heat coagulability and pH of muscle solution from mackerel (Fig. 5–A), from yellowtail (Fig. 5–B), from lizard-fish (Fig. 5–C) and from croaker (Fig. 5–D).

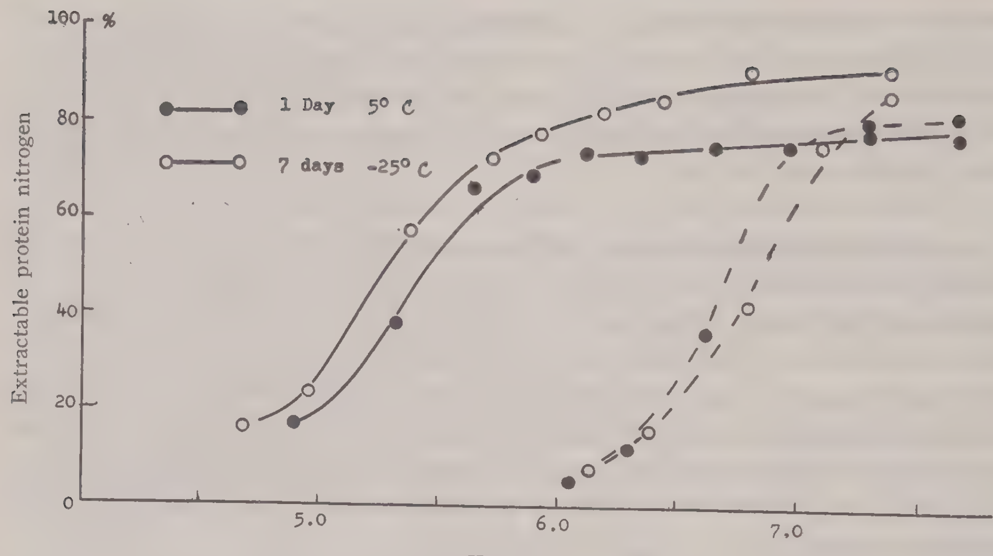


Fig. 5—B

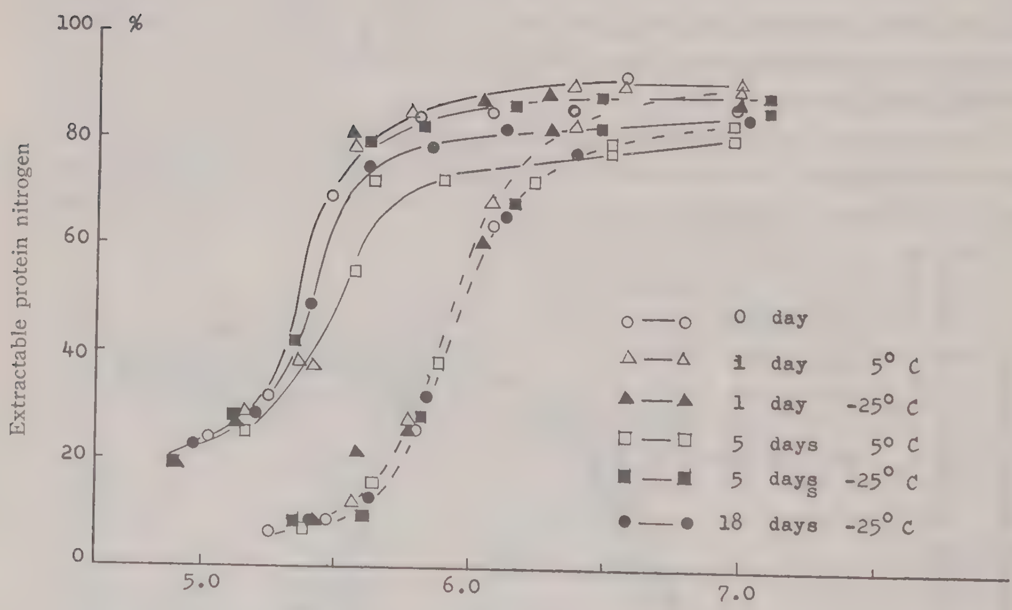


Fig. 5—C

(Jordan et Thompson)) failed to coagulate at a pH as low as 6.0. Horse mackerel coagulated at a pH lower than mackerel and higher than croaker and lizard-fish. It is of interest that the pH value required for coagulation varies with the darkness of muscle color and the briskness of motility of these fish.

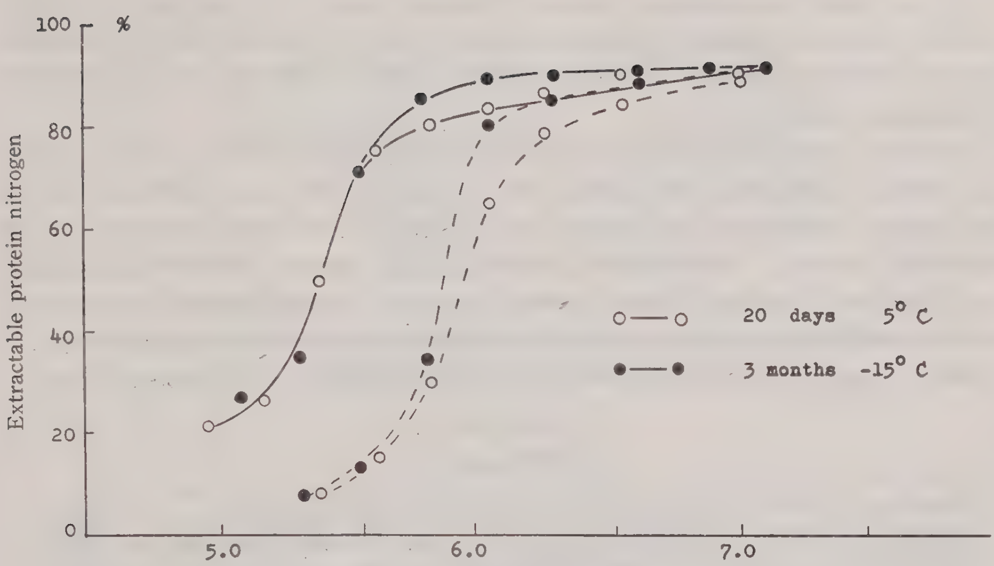


Fig. 5—D

3. Discussion

It seems of significance that the muscle solutions from lizard-fish or croaker, which give a good and uniform product in making the fish cakes or *Kamabokos*, coagulate in a lower pH range when heated and do not coagulate at the pH range of their fresh muscle. On the other hand, the muscle solution of mackerel and yellowtail which are generally not fitted for such products coagulate at higher pH than their muscle of post mortem period. These fish also do not give a good salted or dried fish products, unless they are in very fresh condition. The fish such as horse mackerel can give good materials for the fish cakes as well as other products if they are fresh. The fact seems to correspond to the experimental results: the muscle solution from fresh horse mackerel coagulated at rather higher pH value and, varying with the lapse of storage time, the pH value causing the coagulation decreased.

It is believed that the formation of clear, stable gels of muscle or muscle solution is the most essential factor responsible for the good quality of some kinds of the fisheries products such as dried, salt-cured, and smoked fish, as well as fish cakes and fish sausages. On the other hand, the coagulation or aggregation of protein during processing the products, resulting in the crumbling of the protein gels, causes the products to soften or become turbid and lose elasticity.

It was known that denatured protein gels can be formed only under highly specific conditions(10). Simidu et al.(11-12) studied several kinds of fish for the condition in which fish muscle made a rigid gel when heated. However, the cause of the different abilities to form the rigid gels among fish were not fully interpreted.

In the present experiments, the clear differences among the heat coagulability was revealed. It seems probable that the formation of gel or homogeneous sol in heating muscle solution is correlated with the formation of rigid, clear gel of fish proteins in processing products.

It seems possible that the gel formation, showing water holding capacity of protein molecules, depends on the nature and amounts of the ions existing in muscle. The present investigation was carried out on the whole fish muscle, but not on the actomyosin isolated. The differences observed among various species may be due to the differences in amount of ions existing in muscle, or most probably the decrease in pH in muscle of the red muscle fish may result in some irreversible change in properties of muscle protein so that the water holding capacity of the protein is lost.

References

1) SIMIDU, W. & SIMIDU, U.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 442 (1957).
2) SIMIDU, W., SIMIDU, U. & TERASIMA, H.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 701 (1958).
3) CONNELL, J. J.: *Biochem. J.*, **54**, 119 (1953).
4) DINGLE, J. R., EAGLES, D. E. & NEELIN, J. M.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **12**, 75 (1955).
5) HAMOIR, G.: *Arch. intern. physiol. et biochem.*, 63, suppl. (1955).
6) SIMIDU, Y. & SIMIDU, W.: *Unpublished.*
7) HAMOIR, G.: *Advances in Protein Chem.*, **10**, 227 (1955).
8) DYER, W. J., FRENCH, H. V. & SNOW, J. M.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **7**, 585 (1950).
9) NOGUCHI, E.: *Bull. Japan Sea Reg. Fisheries Res. Lab. Fisheries Agen.*, **B5** (1957).
10) FERRY, J. D.: *Advances in Protein Chem.*, **4**, 1 (1948).
11) SHIMIDU, Y., SIMIDU, W. & IKEUCHI, T.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **20**, 209 (1954).
12) SHIMIDU, Y., SIMIDU, W. & IKEUCHI, T.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **20**, 295 (1954).

魚肉の褐変に関する研究—III.

燐酸塩緩衝液中の糖とアミノ酸の褐変

永 山 文 男

(1960 年 6 月 16 日受理)

STUDIES ON THE BROWNING OF FISH FLESH—III. BROWNING CAUSED BY SUGAR WITH AMINO ACID IN PHOSPHATE BUFFER SOLUTION

Fumio NAGAYAMA*

In this series, browning of fish flesh have been studied in relation to the role of sugar component in the reaction, but some contradictory results with the behavior of sugar were obtained in the experiment on the browning of fish flesh by heat[1,2].

Although the literature on the browning of sugar-amino acid or protein in model system is already voluminous, most of these reports do not deal with the reaction under the same condition as in raw or processed fish flesh.

Present author investigated the browning in sugar-amino acid system by heat in 0.1 M phosphate buffer, pH 6.5, which is considered to be comparatively close to the natural condition.

Phosphate buffer seemed to accelerate browning of sugar even in the absence of amino acid (Table 1). Color production was stronger in ribose than in glucose (Table 2), but fluoresence was stronger in the latter (Table 6). Among amino acids, in general, basic acids produced color strongly, and acidic acids caused no browning (Table 2). There was no distinct correlation among browning, loss of sugar, and loss of amino acid (Tables 3, 4 and 5).

Details of the effect of phosphate on the browning and the properties of reaction products will be reported in the following paper.

畜肉，牛乳，鶏卵および魚貝肉等を含めたいわゆる肉製品の褐変は，主として Maillard 反応に基くものであることは既往の数多い研究から明らかなところである。著者は先に魚肉の加熱に伴う褐変と糖含量との関連性について検討し，遊離還元糖は褐変の主要な因子ではあるが，必ずしも糖含量と褐変度とは比例しないことを報告した[1,2]。

加熱による褐変が Maillard 反応に基くものであれば，当然，糖とならんで反応の主要なもう一つの因子であるアミノ化合物との関係について考慮せねばならない。また肉類などの天然物中には糖，アミノ化合物の他に各種の成分が含まれているのであるから，反応条件もかなり複雑なものと考えられる。したがつて，純粋な糖とアミノ酸によるモデル実験の結果がそのまま実際に天然物を加熱した際に起る反応の全てを表わすものではないであろうが，著者は比較的自然状態に近い条件として pH 6.5 の燐酸塩緩衝液をえらんで，その緩衝液中での糖とアミノ酸の加熱に伴う褐変について観察し，褐変における糖とアミノ酸の関係を明らかにしようとした。

実　　験

試 薬　アミノ酸，糖，燐酸塩等は全て市販の特級試薬をそのまま用いた。

方 法　予じめ pH 6.5 の 0.1 M 燐酸塩緩衝液に糖を約 0.4〜0.5 mM/10 ml になるようにとかして

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

おく。各アミノ酸を約 0.4mM とり，個々のアミノ酸毎に糖の溶液 10ml を加えアンプルに封入して 113° 90 分または 120° 60 分オートクレーブで加熱する。

分　析　アミノ酸はニンヒドリン法，グルコースはアンスロン法，リボースはオルシノール法で，それぞれ，加熱前と加熱後定量した。

吸光度は色調がきわめて濃いので 0.5cm のセルを使用して測定した。

螢光度は Beckman の螢光測定装置により，0.1N H_2SO_4 にとかした 100 万分の 1 の硫酸キニーネを 100% として測定した。

なお Table 1 にあげた実験の条件は表の説明に示したごとく，上記の実験条件とやや異る点がある。

結果および考察

燐酸塩の影響　グリシン，リジンおよびヒスチジンの3種のアミノ酸に，それぞれグルコースまたはリボースを混じ水に溶解して加熱してもほとんど褐変を起さないが，燐酸塩緩衝液を加えて加熱すると著しい褐変が起る (Table 1)。普通 pH 7 以下では褐変が起らないとされているが[3]，この結果から，pH 値の影響とは全く別に，燐酸塩の存在そのものによつて糖-アミノ酸系の褐変反応が促進されることは明らかである。しかも Table 1 にみられるように，アミノ酸を加えない場合でも燐酸塩を加えた糖液が褐変する点から，燐酸塩は糖-アミノ反応によらない糖の褐変をも促進するものと考えられる。燐酸塩が褐変反応を促進する作用を有することはすでにいくつかの報告にみられることであるが[7]，天然物，殊に魚肉の褐変においてかなり重要な意味をもつ。すなわち魚肉中には通常多量の燐酸が存在し，さらに pH 値も本実験の条件に近似のものであるので，魚肉を加熱する際，燐酸が褐変を助長することが考えられるからである。燐酸塩のこのような影響が焦性ブドウ酸ソーダ[4] あるいは醋酸塩[5] 等の褐変促進作用と同じ性質のものか否か，またその詳細な作用機作については更に検討を加え別に報告する。

Table 1.　Effect of phosphate buffer on browning in sugar-amino acid system. To the mixture of 1ml (40 micromoles) each of sugar and amino acid aqueous solution in water, was added 5ml of water or 0.1M phosphate buffer, pH 6.8. The solution was sealed in ampule, and autoclaved for 1 hour at 113°. Absorbance of the autoclaved solution was measured with 1cm cuvette.

Wave Length	Sugar	Solvent	Amino acid			
			Gly.	Lys.	His.	None
430 mμ	Glucose	Water	neg.	neg.	neg.	neg.
	Ribose	〃	〃	〃	0.140	〃
	Glucose	P.-Buffer	0.138	0.240	0.230	0.114
	Ribose	〃	0.353	0.458	0.404	0.285
490	Glucose	Water	neg.	neg.	neg.	neg.
	Ribose	〃	〃	〃	0.067	〃
	Glucose	P.-Buffer	0.075	0.120	0.105	0.060
	Ribose	〃	0.171	0.217	0.177	0.131

燐酸塩緩衝液中の糖 アミノ酸の着色　個々のアミノ酸をそれぞれ糖と混合し pH 6.5 の 0.1M 燐酸塩緩衝液に溶解して 113°C または 120°C に加熱すると，アスパラギン酸，システィン，グルタミン酸を除き，いずれのアミノ酸を混じたものも明らかに褐変する (Table 2)。糖のみの溶液についても Table 1 の場合と同様に褐変がみられるが，上記の3種を除いたアミノ酸を加えたものでは褐変が促進され，恐らく糖-アミノ反応が起つたものと考えられる。本実験で供試したアミノ酸中で最も褐変度の大きなものはリジンであり，ヒスチジン，グリシンがこれに次ぐ。これらのアミノ酸はいずれも褐変度の高いアミノ酸としてしば

しば既往のモデル実験[6,7]に用いられており，また馬場[8]も魚介肉の加熱時の褐変にリジンが密接な関係を有することを認めている。一方本実験においてはアスパラギン酸，システィン，グルタミン酸等は褐変を起さぬのみならず，むしろ糖の褐変を抑える傾向が認められ，チロシンも褐変度が小さかつた。またリジンなどと同様に褐変のモデル実験にしばしば用いられているアルギニンも本実験では特別褐変度が大きいものではなかつた。一般に魚肉は多量のリジンを含むことが知られているが，本実験の結果からも加熱による褐変にリジンが主要な因子となることが推定される。しかし LENTO[9] のようにアミノ酸の炭素数，UNDERWOOD[10] のようにアミノ基の位置についての規則性は認められなかつた。当然のことであるが温度の高いほど褐変度は大きい。反応生成物については別に報告する。

Table 2. Absorbance of the phosphate buffer solution containing amino acid and glucose or ribose after autoclaving.
About 0.4 millimole of each amino acid and sugar were dissolved in 10 ml of 0.1 M phosphate buffer, pH 6.5. Absorbance of the solution autoclaved was measured with 0.5 cm-cuvette at 490 mμ.

Amino acid	113°, 90 min.		120°, 60 min.	
	Glucose	Ribose	Glucose	Ribose
Ala.	0.208	0.322	0.577	0.825
Arg.	0.350	0.323	0.511	0.693
Asp.	—	—	0.043	0.206
Cys.	—	—	0.180	0.161
Glu.	0.015	0.062	0.025	0.132
Gly.	0.380	0.631	0.861	1.257
His.	0.398	0.770	0.870	1.385
Hyd.	0.193	0.428	0.552	0.818
Leu.	0.248	0.323	0.601	—
Lys.	0.999	0.850	1.583	1.732
Met.	0.258	0.410	0.631	0.980
Phe.	0.490	—	0.770	0.901
Pro.	0.131	—	0.410	0.613
Ser.	0.188	0.400	0.645	1.030
Thr.	0.170	0.394	0.656	0.894
Try.	—	—	0.600	0.816
Tyr.	0.111	0.273	0.303	0.550
Val.	0.241	0.374	0.722	0.900
None	0.060	0.176	0.219	0.374

Table 3. Loss of glucose during autoclaving with amino acid in phosphate buffer, pH 6.5.

Amino acid added*	Loss of glucose			
	113°, 90 min.**		120°, 60 min.***	
	micromoles per ml.	%	micromoles per ml.	%
Ala.	5.7	14.5	21.2	42.3
Arg.	12.6	31.7	23.4	46.7
Asp.	—	—	8.4	16.7
Cys.	—	—	20.5	40.1
Glu.	1.4	3.4	9.5	19.0
Gly.	5.2	13.1	22.3	44.5
His.	4.9	12.4	21.7	43.4
Hyd.	3.6	9.0	17.8	33.4
Leu.	6.8	17.2	13.4	26.7
Lys.	17.7	44.8	31.2	62.3
Met.	7.4	18.6	21.7	43.4
Phe.	10.5	25.5	25.6	51.2
Pro.	2.2	5.5	18.9	37.8
Ser.	7.6	19.3	22.8	45.6
Thr.	7.6	19.3	22.8	45.6
Try.	2.7	6.9	15.5	30.1
Tyr.	4.1	10.3	13.4	26.7
Val.	2.7	6.9	22.3	44.5
None	3.0	7.6	13.4	26.7

* Amounts of amino acids added are shown in Table 5.
** Original solution contained 39.6 micromoles of glucose per ml.
*** Original solution contained 50 micromoles of glucose per ml.

アミノ酸と加熱した糖の量的変化　（1） グルコース。 本実験ではグルコース定量は還元法によらずアンスロン法だけによつたが，Table 3 に示したようにリジンと加熱したものが最も減少し，着色度と同じようにみえるが，次いでアルギニン，フェニルアラニンと加熱したものの減少度が大きく，着色度とは並行しない。アスパラギン酸，グルタミン酸は褐変を抑えたと同様にグルコースの減少をも抑制するように思われる。アミノ酸を加えない糖液の減少度を差引いて温度による差を比較すると，温度の高低による糖の減少度の差は着色度の場合ほど顕著でない。この結果から加熱による褐色物質の生成とアンスロン反応に陽性な

Table 4. Loss of ribose during autoclaving with amino acid in phosphate buffer, pH 6.5.

Amino acid added*	Loss of ribose			
	113°, 90 min.**		120°, 60 min.***	
	micromoles per ml.	%	micromoles per ml.	%
Ala.	20.4	59.8	29.5	59.0
Arg.	28.6	83.8	39.5	79.0
Cys.	—	—	27.3	54.5
Glu.	5.2	15.1	0	0
Gly.	26.0	76.1	34.4	68.7
His.	19.9	58.4	26.1	52.2
Hyd.	17.5	51.3	22.5	45.0
Leu.	19.7	57.9	—	—
Lys.	31.5	92.5	43.3	86.5
Met.	25.4	74.4	38.9	77.7
Phe.	23.1	67.8	35.2	70.4
Pro.	—	—	23.6	47.2
Ser.	23.8	69.7	35.5	70.9
Thr.	24.0	70.5	35.9	71.7
Try.	20.1	59.0	23.2	46.3
Tyr.	14.3	42.2	21.3	42.6
Val.	23.5	68.8	36.6	73.2
None	14.2	41.6	21.3	42.6

* Amounts of amino acids added are shown in Table 6.
** Original solution contained 34.1 micromoles of ribose per ml.
*** Original solution contained 50 micromoles of ribose per ml.

物質（ヘキソース）の減少度とは必ずしも一致しないと考えられる。

（2） リボース。 オルシノール反応によつてリボースを定量すると Table 4 のごとき結果を得た。すなわち，グルコースの場合と同様にリジンと加熱したものが最も減少度が大きく，アルギニンがそれに次いでいる。グルタミン酸，アスパラギン酸およびチロシンはリボースの減少を全く抑えるが，褐変を起さないシスティンの試験区はリボースが明らかに減少している。このように，褐変度と糖の減少度が必ずしも併行しないことはアミノ酸の種類によつて，加熱時の糖との反応に差異があることを示すものである。Table 4 で 120° の方が 113° よりもリボースの減少度（%）が低い値になつているが，減少量（μM）は 120° の方が多い。減少量，減少度ともグルコースに比べリボースは極めて大きな値を示し，また 113° で反応は急激に起るように思われ，着色度についての観察結果とあわせて， Tarr[11]，Habib[12] 等が述べているごとくリボースあるいはペントースがグルコースに比較し強い褐変作用を有することが認められる。

糖と加熱したアミノ酸の量的変化　糖とともに加熱した溶液中のアミノ酸の量をニンヒドリン反応で定量して Table 5 の結果を得た。最初に溶解したアミノ酸の量が各アミノ酸について同じでないので減少度（%）を比較するよりは減少量（μM）を直接比較するのが適当と思われる。すでに褐変におけるアミノ酸の減少について観察した多くの研究があり，蛋白と糖の褐変について Giri[13] はアルギニンが最も減少度が大きく，リジンとヒスチジンがこれにつぐと報告し，Lea[14] はリジンが最も減少度が大きく，アルギニンがこれにつぐと述べている。Hodson[15] もまた牛乳の褐変において上記 3 種のアミノ酸が著しい減少を起すことを観察した。しかし，本実験ではアルギニンの減少はさして顕著なものではなく，グルタミン酸およびグリシンが著しく減少した。リジンとヒスチジンの減少量は多いが，他のアミノ酸に比して，着色度についてみられたような特異性は示していない。馬場[9] は魚貝肉の加熱に伴う有効性リジンの変化について観察し，リジンはグルコースの褐変を著しく促進するが，着色度とリジンの量的変化とはさして密接な関係を有するものでないことを報告しているが，本実験の結果と類似するものであろう。また糖の減少量（Table 3 と 4）とアミノ酸の減少量（Table 5）のモル数はアミノ基の数を考慮しても一致しない。

このように，着色度，糖およびアミノ酸の量的変化が相互に直線的相関を示さないことは，一つに本実験で用いた分析法によるものかも知れない。すなわち，褐変反応の生成物のある段階のものはアンスロン反応に陽性であり，また，あるものはニンヒドリン反応に陽性であることが知られており，このような生成物の混在が，真の糖あるいはアミノ酸の減少量を与えない危険性がある。しかし，褐変の初期の段階では糖-アミノ反応が 1: 1 モル反応であることが知られているが，褐変反応が進むと，その間に更に別のアミノ化合物が反応に関与することが推定されているので，各種の段階の反応生成物が混在していると思われる本実験の分析結果は必ずしも反応の細部を示すものではない。

Table 5. Loss of amino acid during autoclaving with sugar in phosphate buffer, pH 6.5 (113°, 90 min.).

Amino acid	With Glucose*				With Ribose**			
	Original	Autoclaved	Loss		Original	Autoclaved	Loss	
	micromoles per ml.	micromoles per ml.	micromoles per ml.	%	micromoles per ml.	micromoles per ml.	micromoles per ml.	%
Ala.	39.4	28.8	10.6	26.9	35.8	26.4	9.4	26.1
Arg.	40.7	34.4	6.3	15.6	36.2	29.1	7.1	19.6
Glu.	44.7	27.6	17.1	38.4	39.1	23.9	15.2	38.9
Gly.	42.5	28.5	14.0	33.0	43.8	30.5	13.3	30.3
His.	38.5	22.7	15.8	40.9	30.8	20.4	10.4	33.8
Hyd.	13.7	3.2	10.5	76.7	33.8	30.6	3.2	9.5
Leu.	28.6	23.6	5.0	17.6	19.3	15.0	4.3	22.3
Lys.	38.9	27.5	11.4	29.4	39.7	29.3	10.4	26.2
Met.	29.4	24.8	4.6	15.6	33.9	26.3	7.6	22.5
Phe.	31.8	24.3	7.5	23.6	—	—	—	—
Pro.	48.2	27.0	21.2	43.9	—	—	—	—
Ser.	32.4	27.2	5.2	16.1	35.7	28.8	6.9	19.1
Thr.	—	—	—	—	36.9	21.1	15.8	15.7
Try.	11.4	5.1	6.3	55.0	6.0	5.8	0.2	3.3
Tyr.	2.7	2.6	0.1	18.9	2.6	2.1	0.5	19.7
Val.	31.3	25.4	5.9	4.5	27.3	24.6	2.7	9.9

* 39.6 micromoles of glucose per ml. ** 34.1 micromoles of ribose per ml.

褐変液の螢光　褐色物質の前駆体として螢光物質が生ずることが知られている[16,17]が，本実験の褐変液でも数種のアミノ酸を除くほとんどの糖-アミノ酸液は螢光を示した（Table 6)。液の濃度が高いと螢光度

Table 6. Fluorescence of the phosphate buffer solution containing amino acid and glucose or ribose after autoclaving for one hour at 120°, pH 6.5.

Filter paper (Toyo No. 51) on which 0.05 ml of the autoclaved solution was spotted was extracted with 10 ml of 0.1 N H_2SO_4 for 30 min. at room temperature. Relative fluorescence was measured against 10^{-6} quinine sulphate solution in 0.1 N H_2SO_4 as 100% control.

Color of fluorescence was observed by the ultraviolet irradiation on the air dried filter paper on which the sample was spotted.

Amino acid	Relative Fluorescence		Color of Fluorescence*	Amino acid	Relative Fluorescence		Color of Fluorescence*
	Glucose	Ribose			Glucose	Ribose	
Ala.	4.0 %	5.6 %	white blue (m)	Met.	5.0 %	0 %	Light violet (m)
Arg.	10.8	10.8	〃	Phe.	20.9	13.8	yellowish green (s)
Asp.	—	—	blue (vw)	Pro.	3.1	0	blue (w)
Cys.	—	—	Light blue (s)	Ser.	4.5	0.3	white blue (m)
Glu.	1.9	0	blue (vw)	Thr.	5.0	1.7	〃
Gly.	6.9	10.6	pale pink (m)	Try.	29.2	18.6	{yellow ring, violet spot (s)
His.	14.9	15.7	bluish green (s)	Tyr.	2.5	0	neg.
Hyd.	2.2	0.8	blue (w)	Val.	5.2	5.9	blue (w)
Leu.	4.9	2.7	white blue (m)	None	0.8	0.7	neg.
Lys.	21.0	15.5	yellowish pink (s)				

* No difference of color is found between glucose and ribose. s, strong; m, median; w, weak; vw, very weak.

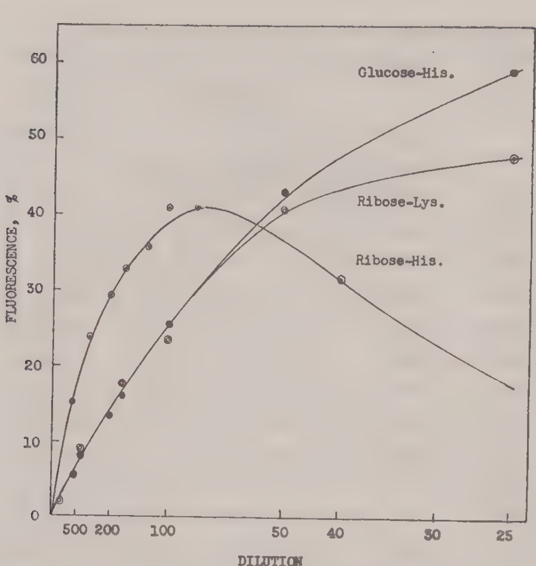


Fig. 1. Effect of dilution on the relative fluorescence of the autoclaved solution of sugar with amino acid.
Glucose-his. and ribose-lys. were diluted with 0.1 N H_2SO_4, and ribose-his. was diluted with 0.1 M phosphate buffer, pH 6.5.

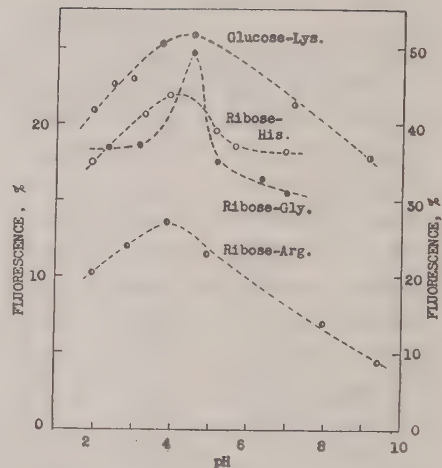


Fig. 2. Effect of pH on the relative fluorescence of the autoclaved solution of sugar with amino acid.
Left ordinate, glucose-lys. and ribose-arg. diluted to 6×10^{-3}.
Right ordinate, ribose-his. and ribose-gly. diluted to 1.2×10^{-2}.

がかえつて小さくなるような場合もみられた (Fig. 1) ので 0.1N H_2SO_4 で 200 倍に稀釈して測定した。グルタミン酸，アスパラギン酸は褐変も起さなかつたが螢光もみられない。またメチオニン，チロシンも螢光は弱い。それに反し，全く褐変のみられなかつたシスティン（螢光度は測定しなかつた）が極めて強い螢光を示した。褐変度の強いリジン，アルギニン，グリシンおよびヒスチジンは螢光度も強い。トリプトファンとフェニルアラニンは褐変度も比較的大きいが螢光度は特に高い値を示した。螢光は pH 4.0～4.5 附近で最も強いもののようである (Fig. 2)。沪紙上にスポットして紫外線を照射して螢光の色調をみると，アミノ酸の種類により多少異つている (Table 6)。グルコースとリボースを比較すると，前者の方が全般に螢光度が強く，褐色度とは逆である。これは褐変の進行により螢光体が更に褐色物質となつて螢光を失うためと考えられる。

螢光物質および褐色物質の分離とその性質については別に報告する。

要　　約

1) pH 6.5 の燐酸塩緩衝液中のアミノ酸と糖の加熱による褐変について観察した。

2) 燐酸塩緩衝液は糖-アミノ酸の褐変を促進する。

3) リボースはグルコースよりも褐変度は大であるが，螢光体はグルコースの方に多くみられた。

4) 最も褐変を起し易いアミノ酸はリジン，グリシンおよびヒスチジンであり，アスパラギン酸，グルタミン酸およびシスティンは褐変を起さない。

5) 糖およびアミノ酸の減少度はリジンを除いて褐変度とは併行せず，また糖とアミノ酸の減少量も一致しない。

本研究を行なうに当り御指導賜つた小野豊樹教授ならびに分析に協力された杉浦聰彦氏に深く感謝の意を表する。

文　　　　献

1) 小野・永山: 本誌, **24**, 833～836 (1959).
2) 永山: 本誌, **26**, 1026～1031 (1960).
3) C. O. WILLITS, J. C. UNDERWOOD, H. G. LENTO, Jr. and C. RICCITI: *Food Research*, **23**, 61～67 (1958).
4) R. G. RICE, Z. I. KERTESZ and E. H. STOTZ: *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1798～1800 (1947).
5) A. PATRON: *Ph. D. Thesis, University of Massachusetts*, 1949; Ref. No. 137 in 6).
6) J. P. DANEHY and W. W. PIGMAN: *Advances in Food Research*, **3**, 241～290 (1951), (Review).
7) J. E. HODGE: *J. Agr. Food Chem.*, **1**, 928～943 (1953), (Review).
8) 馬場: 本誌, **26**, 330～333 (1960).
9) H. G. LENTO, Jr., J. C. UNDERWOOD and C. O. WILLITS: *Food Research*, **23**, 68～71 (1958).
10) J.C. UNDERWOOD, H.G. LENTO, Jr. and C.O. WILLITS: *ibid.*, **24**, 181～184 (1959).
11) H. L. A. TARR: *Nature*, **171**, 344 (1953); *Food Technol.*, **8**, 15～19 (1954).
12) A. T. HABIB and H. D. BROWN: *ibid.*, **11**, 85～89 (1957).
13) K. V. GIRI, P. B. RAMA RAO and R. RAJAGOPALAN: *Food Research*, **18**, 217～222 (1952).
14) C. H. LEA and R. S. HANNAN: *Biochem. Biophys. Acta*, **5**, 433～456 (1950).
15) A. Z. HODSON: *Food Research*, **17**, 467～471 (1952).
16) L. FRIEDMAN and O. L. KLINE: *J. Biol. Chem.*, **184**, 599～606 (1950).
17) L. R. OVERBY and D. V. FROST: *J. Nutrition*, **46**, 539～550 (1952).

養殖スッポンに発生した脂質代謝異常について—I.

養殖と発病との関係

福　田　博　業

(1960 年 6 月 22 日受理)

STUDIES ON THE ABNORMAL METABOLISM OF LIPIDS IN CULTURED SNAPPING-TURTLES, "*AMYDA JAPONICA*".—I.

RELATIONS BETWEEN THE OCCURRENCE OF DISEASE AND CONDITIONS OF CULTURE.

Hironari FUKUDA*

The occurrence of disease among cultured snapping-turtles in a nursery pond were observed in the last summer. The diseased turtles were in a chronic condition, and spoilt the taste as well as the market value.

Relations between the disease and cultured condition are investigated. Causes of disease are seemed to be the over-feeding of dry silkworm pupa, containing remarkable amount of oxidised rancid oil.

Distinction between diseased turtle and healthy one by external appearance is difficult with the exception of serious illness. One of index for diagnosis of the disease is to find the ratio of body weight to shield length as shown in the Table 1. The diseased turtles are under intensive innutritions condition, but they are thick more than the normals in appearance.

山陰地方の某スッポン養殖場において発生した病変スッポンの調査を依頼されたので，病体の送付をうけて研究を行なつた結果，悪質な変性脂質の異常蓄積による病変であることが明らかとなつたので，その概要について報告する。

最初病気の発生状況を聴取したとき，養豚に発生するいわゆる“黄豚”と同じ原因によるものではないかと考えたが，実験の結果は黄豚とは全然異なるものであることがほぼ明らかになつた。黄豚の場合も魚粕や蚕蛹などの過剰給餌が原因となつて成豚の体脂肪を悪変する病気であるが，たゞ肉質を損ずるだけで生命の維持には支障はない。

ところがここに報告するスッポンの場合には，飼料中（鮮魚および蚕蛹）に含まれる高度不飽和脂肪酸がそのまゝ体脂肪に移行したために起るものではなく，飼料中の脂質に含まれる有害な変性物質が蓄積脂肪中に移行して多量に蓄積されたために起る病変であろうと推定される。これら有害物質のうち病変の原因となつたものは後報でのべるとおり，過酸化物および酸化酸であろうと推定されるが，このような異常な脂質が生体内に蓄積したという報告は見当らないので，病理的にも生化学的にも興味ある事実であろうと考える。

本報においてはまず発病の状況について概括的にのべる。

調査の方法

調査を依頼された時期がすでにスッポンの活動期を過ぎ，発病の原因と思われる摂餌を終つた季節であつた。従つてスッポンは発病した個体を含めて全部が冬眠に入つていたから，現地に赴いて実地調査すること

* 宮崎大学農学部水産学科 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Miyazaki Univ.).

を不必要と考えたので，現地における調査は行わなかつた。養殖池の状況，養殖管理の方法，発病の状況，病因の推定などについて当業者と話合つて聞取り調査を行つた。しかし養殖池の状態，養殖管理の方法などについては，すでに以前から度々実地を視察し細部にわたつて知悉していたから，従来と特別に変つた状況は認められなかつた。

結果と考察

I. 病徴の発現状況，特に養殖条件との関係について。

調査の結果，養殖池の水質，底質，水温などの環境条件には特別に従来と変つた点は認められなかつた。

問題は飼養管理の方法，特に餌料配合の点で注意をひく疑問点があつた。それは従来主として鮮魚肉と乾燥蛹（搾干蛹）とをほぼ半々に投与していた餌料を，この年から搾干蛹の代りに丸干蛹（搾油せずそのまま乾燥したもの）に変えて多用したという事実である。その理由は丸干蛹の方が餌付きがよいということであつた。

当業者から聞き取つて明らかにされた点は次のようである。

1) 病体は主として市販年令に達した4才もので，摂餌力の旺盛な個体がかかり易い。
2) 同一池内で同一条件で飼養したもののなかで発病するものと正常のものとがある。発病率は不定であるが，大体において 10% 位である。
3) 餌料は鮮魚肉と乾蛹（丸干および搾干）であるが，その投与率は不定である。安価な鮮魚の入荷するときは魚肉を多くするが，鮮魚の少ないときは乾蛹を多く投与した。
4) 餌料の鮮魚と乾蛹とは交互に投餌するが，いずれか一方を好んで偏食する個体のあることは想像される。丸干蛹は非常に食いがよいということからみても，これを偏食する個体があるのではないか。
5) スッポンが冬眠からさめて餌をとり始める時期が5月下旬～6月上旬頃であるから，盛んに摂餌をはじめる6月以後に，1～2 カ月して発病する個体が多い。
6) 盛夏 7，8 月頃になつて運動不活発となつて水面を泳いでいる個体をすくい上げてみると，たいてい徴候が現われている。
7) 病徴が現われる頃になると運動がにぶくなり，ほとんど摂餌しなくなる。しかしそのために直ちに死亡する個体はなく，秋を過ぎる頃になると正常のものと同様に池底に潜入して冬眠に入る。冬眠期間中は安静に越冬する。
8) 病変の個体もスッポン特有の強い咬力を持ち，泥中に潜入する習性も正常である。
9) 発病した個体は甚だしく不味でスッポン特有の食味がなく，ほとんど食用価値がない。外観による病変の識別が困難であるから，正常なスッポンの市場価格もそのために下落する。
10) 発病した個体は餌を変えても飼い直しができない。その理由は後報にのべる。
11) 養殖池にはスッポンの他にコイ，フナ，モロコなどが混養され，スッポンと同じ蛹を主餌料としているが，異常はみとめられない。
12) 発病の状況からみて，寄生虫，伝染病などの原因によるものではないと判断される。
13) 養殖池の水温は冬眠からさめる頃約 20°C，摂餌期間は 25°～30°C が適温である。止水状態で水深の浅い個所では，真夏の日中水温が 35°C 位に上るが摂餌に支障はない。
14) 餌料残渣が池底に沈殿して腐敗すると底質を悪変して嫌気的な状態にすることが考えられるが，この状態が泥中に潜入したスッポンにどのような影響を与えるかについては不明である。

以上述べた結果から発病原因を判定することは困難であるが，おそらく養殖条件特に餌料組成にその原因があるのではないかと推定される。餌料組成に原因があるとすれば，乾蛹とくに含油量の多い丸干蛹の過給に病因があるのであるまいか。しかし仮りに丸干蛹の過給に病因があるとしても，餌料成分の何に基因するのか，ここでは明らかでない。

一度発病した個体は体質を回復することができず，徐々に慢性化して摂餌および生長を停止して終う。し

かし発病した個体も急性に死の転帰をとることはなく，正常のものと同様に越冬に耐える能力がある。

病変の現れたスッポンは甚だしく食味を悪化し，甚だしいものはほとんど食用にたえない。こういう病変のものが外見上区別できなくて，正常のものに混合して出荷されるおそれがあれば，正常のものの市価までも半減してしまう結果になり，経営上の損失は大きい。

発病した個体の飼い直しによる体質改善も目下のところ不可能の状態にある。豚に発生する黄豚の例では餌料組成を改善することによつて，いわゆる飼い直しを行い体質を改良することができるが，スッポンの場合は変性した脂肪組織が硬変して結締組織膜に被囊されているので，(後報に詳述)，生理的にみても飼い直しは困難のようである。

II. 病変の特徴と外観による識別

外験上の特徴から病変の度合を的確に診断することは非常に困難であるが，次のような点に注意すれば比較的に病徴の進んだものは容易に判別することができる。しかし軽度のものは健体との区別がつき難い。

1) 体高が高く比較的に重厚な感じがある。

2) 腹面の乳白色が鈍い銹色となり，灰緑色の斑紋が濃くあらわれる。

3) 頸部の周囲に腫れた感じがあり，表皮下に水腫がある。

4) 四肢の基部に筋肉の充実感がなく，指頭で圧すとぶよぶよとして抵抗がない。

5) 甲辺縁部は痩せてちりめん皺を生じ，重症のものになると表皮下に水泡状の水腫がある。

6) 全体的に栄養失調の外観があり，表皮下の水腫はそのためである。

以上の諸点から外見して明らかに病体と判定できる重症の個体は別として，外見上疑がわしいと認められる程度のものでも，剖検すれば明らかな内部的病変の認められるものが多い。スッポンの市場出荷に際してこのような病体が混入することは商取引上の不利を招き，経営上の損失が大きい。そのためにも外見的な識別の方法が必要である。

外見的識別法の一つとして 体高/体長 の比を求め，概略的ではあるが診断に役立ち得ることを知つた。

Table 1. Discrimination of disease by outside appearance.

Order	Diseased appearance	Sex	Body-weight (g)	Shield-length (mm)	Body-height (mm)	Height / Length	Weight / Length
1	(−)	♀	536	154	46	0.298	3.48
2	(−)	♂	555	167	48	0.287	3.32
3	(−)	♀	497	162	45.5	0.280	3.06
4	(±)	♂	560	159	46.5	0.292	3.52
5	(±)	♂	514	155	46.5	0.300	3.31
6	(±)	♂	650	169	52	0.307	3.84
7	(±)	♂	727	173	52	0.301	4.20
8	(+)	♀	737	170	53	0.311	4.33
9	(+)	♀	504	148	47.5	0.320	3.40
10	(+)	♂	568	152	50	0.328	3.73
11	(+)	♂	367	135	43.5	0.322	2.71

Table 1 に示した通り，体高/体長 の比率が 0.30 以下であれば個体は一応健全であると判定される。比率が 0.31 以上であれば病体と判定してよい。正常のものよりも病体の方が体高/体長 の比が大きくかえつて肥満した感じを与えるのは，体腔内の蓄積脂肪組織が正常よりも肥大し硬変しているためである。

次に疾病の結果として栄養欠乏状態を生じていることは明らかであるから，当然現われてくる病徴としていわゆる“痩せ”が認められるはずであるが，Table 1 中に示した 体重/体長 の比率からみて体重減少は極端にならなければあらわれない。むしろ明らかな病徴のあるものの方がかえつて正常なものよりも 体重/体

長の比率が大きい傾向がみられ，体重における痩せは認められない。

要　　　約

養殖スッポンに発生した原因不明の病変について，その発病状況と養殖条件，環境条件などとの関係を検討した。その結果，発生したスッポンの集団的病変は飼養管理の方法，特に餌料の組成に関係があるのではないかと推定される。餌料中に特に多く用いた乾燥蛹に原因があるのではないかと疑われる。

病変の著しいものは外観的に判別されるが，軽度のものは解剖によらないと識別されない。診断の指標として体高/体長の比率が 0.31 以上であれば病変と判定される。比率が 0.30 以下であれば健全と見做してよい。

養殖スッポンに発生した脂質代謝異常について—II.
解剖的所見と病因の推定

福田博業・木村正雄

(1960年6月22日受理)

STUDIES ON THE ABNORMAL METABOLISM OF LIPIDS IN CULTURED SNAPPING-TURTLES, "*AMYDA JAPONICA*".—II.
ANATOMICAL OBSERVATION AND ETIOLOGICAL PRESUMPTION OF DISEASE.

Hironari FUKUDA, and Masao KIMURA*

Anatomical observations of the diseased snapping-turtles are described in this report. The most remarkable symptom of diseased bodies is abnormal states of the adipose tissues such as dark brown color, lumpy granule or mass, and hardened cheese like appearance.

Degenerated adipose tissues are sucked with the membrane of connective tissue and completely isolated from the other tissues. Moreover, in spite of starveling condition of diseased body, the adipose tissues were not consumed and remained as much as 15～19% of body weight. Muscle, liver, overy and other organs are all in atrophy, and water contents of muscle tissues are 83～86% to the contrary 76～79% in the healthy one.

These facts indicate that the accumulated lipids were remained without consumption in the diseased individuals, in spite of the serious innutritive conditions.

前報[1]において病変スッポンの発病原因が餌料として多用した乾燥蛹（丸下蛹）にあるのではないかと推定した。

餌料として多く与えた丸下蛹に原因があるとすれば，その中に含まれている多量の蛹油の性状にまず注意が向けられなければならない。餌料中の蚕油が有害なために発生した病気であるならば，個体の内臓はもちろん脂肪組織の状態や脂質の性状などにも影響がおよんでいるはずである。

外観的に病変と判定される個体を解剖して正常のものと比較した結果，両者の器官や組織の状態に顕著な差異が認められたので，それらの点について報告する。

実験材料と方法

実験に供したスッポンは3年～4年のもので市販年令に達した個体であるが，成長の中途で発病し栄養欠乏の状態で冬眠に入ったものである。対照として用いた正常個体は病体と同一の養殖池内で養成され，しかも外見上全たく異常の認められないものである。

冬眠中の個体を水底から掘り上げ，乾いた木屑とともに箱詰とし鉄道輸送した。着荷後ただちに水槽中に放ち，水底の泥に潜らせて安静に冬眠を継続せしめた。送付されたスッポンのうち，病変度が高いと判定される個体が20頭くらいであったが，その中で実験期間中（11月～3月）に病死した個体はわずかに1頭にすぎなかった。相当に病変がはなはだしいと認められる個体でも，スッポン特有の強い咬力があり，池底の泥中に深く潜入する力も強く，特別な体力の衰弱は認められない程であった。しかし外見上明らかな徴候が

* 宮崎大学農学部水産学科 (Lab, Fish. Chem., Fac. Agr., Miyazaki Univ.).

みとめられ，剖検すれば例外なしに異常な病変がみとめられた。

剖検に際してはまず延髄を刺してから甲羅を除き，つぎに内臓を摘出して病理学的な所見をしらべた。各臓器の組織標本を採取したのち，筋肉部，脂肪組織部，皮部，骨格部などに分けて各部の重量比を比較した。最後に各器官組織について水分量，粗脂肪量などを測定した。脂肪組織からエーテル抽出して得た脂質はその後の特数測定に供試した。

実験結果と考察

I. 解剖所見

病体の外観，甲羅を除いた内臓部，および内臓を除去したときの脂肪組織の状態などを Fig. 1 に示した。(印刷の都合により色彩写真を省略した。)

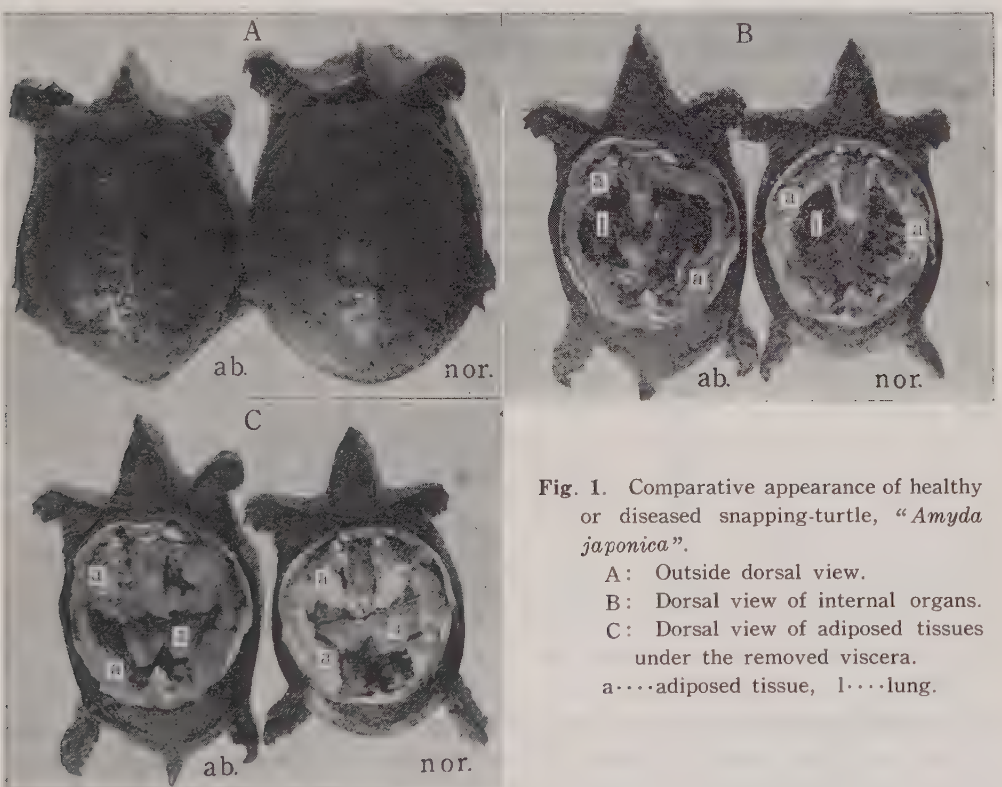


Fig. 1. Comparative appearance of healthy or diseased snapping-turtle, "*Amyda japonica*".
A: Outside dorsal view.
B: Dorsal view of internal organs.
C: Dorsal view of adiposed tissues under the removed viscera.
a····adiposed tissue, l····lung.

剖検した結果をまとめるとつぎのとおりである。

1) 正常のものに比し脂肪組織が肥大して多量の脂質が蓄積され，明らかに異常な状態になつている。脂肪組織の状態により最もよく識別される。

2) 正常な脂肪組織は白く軟弱なクリームようの組織で，筋鞘や内臓の間隙に雲片状に介在している。これに対して病体の脂肪組織は黄褐色のチーズように硬変した組織で，大小の塊状をなしている。

3) 変性した脂肪組織は豆粒大のものからクルミ大あるいは小児拳大の塊状をなし，その外側をかなり厚い結締組織膜で被嚢され，筋肉その他の組織から完全に隔離されている。

4) 病体は明らかに栄養欠乏の状態を示し，筋肉は痩せて水分が多く，弾力性に乏しい。

5) 体腔内に腹水のたまりがあり，甲辺縁部，頸部などの表皮下にも小さな水腫が散見される。

6) 内臓が萎縮し，特に雌における卵巣の萎縮がはなはだしく，卵黄粒は全たく認められない。肝臓にも

萎縮がみられる。

7) 病体は明らかに低栄養状態にあるにもかかわらず，被嚢された脂肪組織の脂質は全然消耗されていない。

8) 脂肪組織には異臭はない。筋肉その他の可食部にも特別な臭気は感じられない。

9) 可食部の食味は全たく不味で食用に適さない。スープにしても同様である。油球が浮上しない。

10) 変性した脂肪組織の一部を水中に投ずると，正常油のように油球は浮上せず，油は水面一様に瀰散して鉱油状を呈する。水とともに煮沸しても同様である。

以上のべた解剖所見のうち，1～6 項は特に顕著な病徴であつて，これによつて病変度を診断することができる。変性した脂肪組織を包む結締組織膜も病変のはなはだしいものほど肥厚している傾向がみとめられる。また水に浮かせた脂質の鉱油状の性状は，生体内に含まれる天然脂質には全たく認められない異常性であつて，病体の食用価値を損じている第一の原因である。正常なスッポンはスープとして調理したとき，きわめて微細な油球が一ように浮上するものをもつて上等品とされている。

II. 各部組織の重量比とそれらの水分，脂肪分

個体各部の組織重量の比較を Table 1 に示す。

Table 1. Difference in proportional weight of main tissues between healthy and diseased bodies.

Section	No. of indiv.	Sex	Degree of disease	Body weight (g)	Proportion of main tissues to body weight. (%)					
					Adiposed tissue	Muscle	Skeleton	Skin	Viscera	Liver
Healthy (Normal)	A	♀	−	825	10.3	28.2	22.3	12.5	12.8	2.7
	B	♀	−	532	10.9	30.1	21.4	15.3	9.3	2.3
	C	♀	−	1070	15.2	30.0	22.5	14.3	11.3	2.5
	D	♀	−	737	13.8	28.0	24.0	12.7	12.8	2.9
Diseased (Abnormal)	1	♀	⧺	360	18.0	20.6	22.0	15.0	8.3	
	2	♀	+	575	14.4	23.8	20.5	12.1	8.7	2.1
	3	♀	⧺	795	24.7	19.9			8.2	2.0
	4	♀	⧺	685	19.2	24.0	23.2	13.2	7.9	
	5	♂	+	647	15.9	25.2	23.4	11.2	8.3	2.0
	6	♂	+	514	18.6	28.0	21.4	13.2	7.9	
	7	♂	+	454	15.6	24.2	23.1	11.8	9.2	
	8	♂	+	568	17.6	19.9	21.8	11.4	9.2	

この結果についてみるとつぎのことがわかる。

1) 脂肪組織部の重量は体重に対して，正常のものでは 10～15% 内外であるに対し病変のあるものでは 15～19%，中には 25% にも達するものがあつた。これには被嚢している結締組織を含み純粋の脂質のみではないが，異常な脂肪蓄積を示しているものと考える。病変のものが正常のものに比して体高が高い原因もそのためである。

2) 筋肉組織部の体重に対する重量比は正常のもので 28～30% あるのに対して，病体では 19～25% 内外であつて，明らかに栄養欠乏の状態にある。しかも筋肉の水分量が多く実質はきわめて貧弱である。

3) 皮部にも多少痩せた傾向がある。

4) 内臓は総体的に萎縮し，正常のものでは体重の 12～9% をしめるのに対して，病体のそれは 9.2～7.9% にすぎない。

4) 肝臓が多少萎縮している。また雌では卵巣が完全に萎縮してその機能を停止している。

以上のように病体は明らかな低栄養の状態を呈し，生理的機能の低下がみられる。それにもかかわらず体内の蓄積脂肪はほとんど消耗されていない。

つぎに組織各部の一般分析値を示すと Table 2 である。

Table 2. Water and oil contents in fresh tissues.

Sect.	No.	Sex	Degree of disease	Water contents (%)			Oil contents (%)		Total oil content (g)	Total oil / Body weight (%)
				Muscle	Adipose tissue	Skin	Muscle	Adipose tissue		
Healthy (Normal)	A	♀	−	78.67	12.11	75.34	1.24	63.72	52.7	6.38
	B	♀	−	79.00	12.74	75.08	1.23	65.51	38.0	7.14
	C	♀	−	76.35	11.50		0.90	69.63	113.5	10.60
	D	♀	−	77.86	13.76		1.18	71.07	72.5	9.83
Diseased (Abnormal)	1	♀	++	84.50	21.70	80.52		40.00	26.0	7.22
	2	♀	+	85.29		81.34	0.27	46.33	36.8	6.71
	3	♀	++	83.31	19.18	78.74		40.40	79.6	10.01
	4	♀	++	86.67	22.27	81.77	0.19	53.78	71.0	10.36
	5	♂	+	84.25	20.64	80.55	0.30	44.66	46.0	7.10
	6	♂	+	84.69		82.35	0.20	45.16	43.3	8.42
	7	♂	+	83.46	19.88	79.63	0.32	42.85	30.0	6.60
	8	♂	+	85.25	20.75			48.50	48.5	8.53

これによつてみると，第一に病体の組織にははなはだしく水分が多い。筋肉組織の水分が健体 76～79% に対して病体では 83～86% と異常な水分量を示している。皮部組織部でも同様で健体 75% に対して病体では 78～82% であつた。脂肪組織の水分は健体で 11.5～13.7% であるのに対して病体では 19.1～22.2% でやはり水分が多い。このことは病体がはなはだしく栄養欠乏の状態にあることを示している。

筋肉組織中に含まれる粗脂肪量は小なく，正常なものでも 1% 内外であるが，病体の筋肉中にははなはだしく少なく 0.3% 以下に過ぎない。

脂肪組織中の粗脂肪量は健康体では 63～71% もあるが，病体では 40～50% くらいで比較的に少ない。その理由は病体の脂肪組織には蛋白質が多く，その大部分は被嚢を形成している結締組織のコラーゲンである。

個体の体重に対する体内脂肪の割合は正常のものと病変のものとの間に差異は認められず，6～10% の範囲にあつた。結果として病体の脂肪組織重量が体重に対して高い比率を示す原因は，脂肪組織を包んでいる結締組織膜が肥厚して強い被嚢をつくつているためである。

以上検討した所見および実験結果からみて，ここに報告したスッポンの病変は家畜における黄豚の例のように餌料中の高度不飽和脂肪酸がそのまま異常蓄積されて発生するものではなく，不飽和脂肪酸に由来する変性脂質の蓄積が原因であろうと想像される。スッポンの病体に蓄積されている多量の変性脂質の性状と由来については今後の研究にまたなければ不明であるが，脂肪組織は明らかに硬変して組織病理的な異常を呈している。

病体ははなはだしい栄養欠乏の状態にあるにもかかわらず，脂肪組織がつよい結締組織膜に包まれて消耗されずに残留している事実から，つぎのことが推定される。

1)　体内に蓄積された脂質が生理的に有害な性質をもつている。

2)　この脂質の有害性を除くために被嚢して他の組織から隔離する必要がある。

3)　被嚢に包んで他から隔離された脂肪組織中の脂質は分解酵素の作用をうけず，代謝作用により更新されない。

最近の研究によつて生体内に蓄積された体脂肪は比較的に短期間内に更新されていることが明らかにされてきた。SCHOENHEIMER[2] によると蓄積脂肪の約半分が 5～9 日間の短時日で更新されるという。

ところがここに報告したスッポンの例では，一旦被嚢に包まれた蓄積脂肪は更新されることなく，半永久的に体内に残留するものと考えられる。もしそうであるならば発病したスッポンの飼い直しによつて体質を改善することの可能性はないように思われる。

生体に対して有害な物質が長期間にわたつて体内に留まるとすれば，その有害作用の影響は慢性症状的な病変として現われてくるであろう。

後報で詳細をのべる予定であるが，病変の現われたスッポンの脂肪組織からエーテル抽出して得られる脂質の性状はまことに悪質なものであつて，その中に含まれている過酸化物の毒性のみを考えてみても個体は到底正常ではあり得ないであろうと思われる。それにもかかわらず個体が正常のものにちかい活力を保持してかなり長期にわたつて生存することができる理由は，有害脂質を厚い被嚢につつんで代謝系から隔離しているためであろうと考えられる。

要　　約

病変の著しいスッポンを解剖し，器官や組織における病理的所見をしらべた。その結果，最も病変の著しいのは脂肪組織であつて，黄褐色のチーズように硬変して塊状を呈し，しかも病変度のはなはだしいものほど厚い結締組織膜で被嚢されている。肝臓，卵巣などにも萎縮があり，腹腔その他に水腫がある。

病体の体重に対する筋肉重量の比率は 19～25%（健体では 28～30%）で筋肉系統の萎縮があり，筋肉組織の水分量は 83～86%（健体では 76～79%）ではなはだしい低栄養状態にある。しかるに他方，脂肪組織の重量は体重に対して 15～19%（健体では 10～15%）で，かえつて正常のものよりも多い。その中から抽出される全脂肪量の体重に対する比率は病変のものも正常のものも大差なく 6～10% であつた。このことは病体が強度の栄養欠乏の状態にあり，筋肉蛋白質を消耗して筋萎縮をきたすほどの低栄養状態にありながら蓄積脂肪の方はほとんど消耗されないで体内に残留しているという異常な事実を示すものと考えた。

文　　献

1) 福田博業： 本誌，**26**，1114 (1960).

2) SCHOENHEIMER, R.: *Harvard Univ. Press, Cambridge,* (1942).

養殖スッポンに発生した脂質代謝異常について—III. 病体の蓄積脂質の性状について

福田博業・黒木暘

(1960年6月28日受理)

STUDIES ON THE ABNORMAL METABOLISM OF LIPIDS IN CULTURED SNAPPING-TURTLES, "*AMYDA JAPONICA*".—III. PROPERTIES OF DEGENERATED LIPIDS IN DISEASED BODY.

Hironari FUKUDA and Akira KUROGI*

Accumulated lipids were extracted with ethylether from the adipose tissues of diseased turtles. Obtained lipids are very viscous, dark color, and contained extremely degenerated oil. Characteristic values of these oil are exceedingly abnormal as indicated in the Table 1 and 2. The characters of abnormal oil are remarkably different from the normal one such as specific gravity (0.94～0.96), acid value (2.4～9.2), peroxide oxygen (0.19～0.38 g/kg), oxidised acid (5.3～9.0%) and mean molecular weight (770～830). But saponification and iodine values are not different from the normal values. Solubilities of the oil in several organic solvents are indicated in the table 3.

These abnormal oils are contained only in the adipose tissue, but not found at all in the muscle and other tissues. Although the diseased body was under the starveling condition, accumulated oils were remained without consumption.

The source of the degenerated oil in the living body is not evident now, but we can presume that it must have been taken in the body as the diet, being accumulated chronically as a results of functional disorder on the liver and kidney by the poisonous effect of the oil. The old dried pupa of silk worm contains much degenerated oil as an example in the Table 4. Then we can presume that over-feeding of old pupa causes the disease in snapping turtles.

発病したスッポンの脂肪組織において最も甚だしい病変がみとめられ，個体は強度の低栄養状態にあるにもかかわらず，脂肪組織中の脂質は消耗されていない。このことから組織中にたくわえられた多量の脂質は有害な性質をもつた変性脂質ではないかと推定した[1]。

病徴のあらわれたスッポンの脂肪組織からエーテル抽出して得た脂質についてその性状を検定した結果，極めて悪質な変性脂質であることがわかつた。

このような悪質な脂肪の蓄積が病気の原因であることはもはや疑いの余地はないと思われるが，これが餌料成分として経口的に取り入れられたものであるか，それとも生体内において二次的に変性して生じたものであるかについては証明し得なかつた。

しかしいずれにしてもこのように毒性のつよいと思われる変性脂質がしかも多量に生体内に蓄積されているという事実はおどろくべきことである。このような事例は他の種類の動物についてもまつたく報告されていない。水産上のみならず，生化学的にみても興味ある事実であろうと考える。

材料および方法

病変のあるスッポンを輸送後安静に冬眠を継続せしめておき，必要に応じて取りあげ，解剖に付したのち組織を分別して脂肪抽出を行つた。

* 宮崎大学農学部水産学科 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Miyazaki Univ.).

脂質の抽出は常法に従い，無水硫酸ソーダを加えて脱水したのち，ソックスレー脂肪抽出器によりエーテル抽出を行つた。その後の研究結果から抽出油中には酸化酸が非常に多いことがわかつたので，エーテル抽出を行つた残滓について，さらにエタノール抽出を行つてみたが，抽出物は僅少であつてエーテル抽出でよいことがわかつた。

抽出した脂質について物理的および化学的性状をしらべて，正常なものと比較した。なお餌料として用いた蚕蛹の抽出油もしらべて比較した。

測定結果

測定した脂質の理化学的性状を Table 1, 2 に示した。

Table 1. Properties of oil, extracted from healthy or diseased Snapping-turtles, "*Amyda japonica*".

Specimens: Section	Specimens: No.	Specimens: Degree of disease	Specific gravity (d_4^{15})	Acid value	Sapon. value	Iodine value	Peroxide value O_2 g/kg	Oxidized acid (%)	Unsapon. matter (%)	Mean moleculer weight (Rast)
Healthy (Normal)	A	−	0.9264	0.47	192.8	100.55	0.014	0		657
	B	−	0.9256	0.73	191.4	125.76	0.015	0		
	C	−	0.9230	0.43	184.7	98.86	0.019	0	1.39	654
	D	−	0.9229	0.49	185.5	115.42	0.003	0	2.16	674
	*	−	0.9229	0.45	195.7	121.09		0		
Diseased (Abnormal)	1	++	0.9647	9.24	218.0	106.80		9.05		794
	2	+	0.9494	3.15	209.5	119.22	0.312	6.29		830
	3	++	0.9511	3.18	203.7	126.11	0.380	5.80		814
	4	++	0.9501	2.42	173.8	114.10	0.277	8.54	1.23	823
	5	+	0.9563	3.40	190.7	94.54	0.278	8.51		800
	6	+	0.9622	7.03	201.9	118.48	0.332			787
	7	+	0.9525	2.62	197.5	149.26	0.195	5.46		793
	8	+	0.9466	3.26	193.0	102.7	0.152	5.38	1.45	774

* THUJIMOTO[4].

Table 2. Physical properties of oil, extracted from healthy or diseased snapping-turtles.

Sample oil	Surface tension dyne/cm (20°C)	Viscosity sec/m* (20°C)	Freezing point (°C)
Normal	37.0～37.4	4.9	−3.0～−3.5
Abnormal	37.0～37.1	11.9～14.5	−3.0～−3.5
Olieve	36.2	7.3	

* Time of fall a 30 mg of lead ball in the column of oil, one meter length.

この結果から病変のあるスッポン油を正常のものと比較するとき甚だしい相異点として指摘される特性は比重，酸価，過酸化物，酸化酸などである。

比重 (d_4^{15}) は正常のものでは 0.92 であるのに対して，病変のものでは 0.94～0.96 で甚だしく重い。しかも比重の値が健体と病体との中間値 (0.92～0.94) を示すような個体はついに見当らなかつた。

酸価は正常油では 0.4～0.7 程度であるのに対して，病変油では 2～9 という高い値を示した。

過酸化物態酸素量は正常油では極めて微小であるが，病変油では 0.15～0.38 g/kg O_2 と異常に多い値を示した。この過酸化物量は相当の毒性を有するものと思われる。

酸化酸量もまた異常に高い含有量を示し，正常値ではまつたく含まれないにもかかわらず，病変油では 5～9% という著量を示した。石油エーテル不溶物として分離された酸化酸は黒褐色の粘稠な飴状のもので半固状である。酸化酸の毒性についてはまだ明らかにされていないが，相当に有害な物質であろうと思われる。

正常油の粘度はオリーブ油よりも小であるが，変性油の方は甚だしく粘度が大でオストワールド粘度計を通らない。レッドウード粘度計がないので，精確な粘度を測定することができなかつたが，散弾 (30 mg) の落下速度を室温 (20°C) で比較してみると，変性油の粘度は正常油の 2.4～2.9 倍，オリーブ油の 1.6～1.9

倍で，甚だしく大きい。

正常油の色はオリーブ油に近い微黄色であるが，変性油の色は濃い黄褐色ないし黒褐色を呈し，甚だしく変敗した魚油に似ている。ただし魚油のような悪臭はない。

その他の特性については著しい相異は認められなかつた。鹸化価，沃素価などは個体によつてかなりの変動があるが，病体としての傾向は認めがたい。不鹸化物量も多くはなく，健康なものと差はない。灰分も同様である。

分子量（Rast 氏法による平均分子量）は正常油 654～674 に対して病変油の方が僅かに大きい値を示し 790～830 の範囲内にあつた。この程度の増加では油脂の重合を示すほどの値ではない。

病変油の外観から表面張力の差を予想したが，測定の結果は正常のものと差異はなく，両者ともに 37.0～37.4 dyne/cm (20°C) であつた。

抽出した油脂は室温において液状であるが，冬期には若干の固体脂が析出した。寒点は両者ともに −3°C くらいであつたから高度の不飽和酸を含むことはないであろう。沃素価も正常なスッポン油と殆んど変らず 100～120 内外のものが多いから，餌料に由来する魚油や蛹油の不飽和脂肪酸がスッポン油中に移行したものとは思われない。病変油も殆んど無臭で，魚油臭や蛹油臭はまつたく感じられない。

各種の有機溶剤に対する溶解性は Table 3 に示したとおり，一般の中性油脂と同様であるが，病変油の方は溶液の混濁する場合が多く，溶剤に不溶性の不純物を含むことを示している。

次に病変の原因に関係があると推定される蚕蛹油について油脂特性を測定して比較した。しかし昨年の発病時に給餌に用いた蚕蛹と同一の試料が入手できなかつたので，調製後 1, 2 カ月しか経過していない比較的に新しい乾燥蛹を試料とし，そのなかに含まれている油脂の性状をしらべた。その結果は Table 4 中に示

Table 3. Solubility of oil in the various organic solvents. Samples are obtained from healthy or diseased snapping-turtles.

Solvents	Solubility		Turvidity	
	Normal	Abnormal	Normal	Abnormal
Chloroform	+	+	−	−
Benzene	+	+	−	−
Carbontetrachloride	+	+	−	−
Trichlorethylene	+	+	−	−
Ethylether	+	+	−	−
Dioxane (anhyd.)	+	+	−	±
Acetone (anhyd.)	+	+	−	±
Petroleumether	+	+	−	±
Carbonbisulfide	+	+	−	+
Acetic acid	+	+	+	+
Ethanol (anhyd.)	±	+	+	++
Ethanol (95%)	−	±	−	++

Table 4. Properties of pupa-oil from silk-worm.

Dryed pupa		Oil contents (%)	Properties of extracted oil						
Drying	Habitat		Specific gravity (d_4^{15})	Acid value	Sapon. value	Iodine value	Peroxide oxygen (g/kg)	Oxidized acid (%)	Mean molecular weight
Round	Tottori	29.05	0.9263	5.44	186.8	93.74	0.044	0.44	752
〃	Miyazaki	25.62	0.9234	9.12	183.5	114.32	0.011	0.12	767
Pressed	Tottori	18.95	0.9250	18.33	182.4	123.50	0.027	0.49	807
〃	Miyazaki**	21.60	0.9344	93.65			0.279	11.72	
*	Nagano etc.		0.923～0.927	17.7～104.8	187～197	123～146			

* M. Thujimoto[4].　**Old pupa, which is stored more than one year.

したとおり，その性状にほとんど異常はみとめられず，辻本[4]が古く測定した値と大差はなかつた。ところが Table 4 中に示した1例（宮崎県産搾干蛹）のように1年以上にわたつて長期貯蔵された乾燥蛹中の油脂は変敗が甚だしく，ことに酸価，過酸化物，酸化酸などの値は甚だしく異常であつた。この事実から長く貯蔵した古蛹を餌料として過給したときの害毒を推定することができる。

考　　察

以上の実験結果から病変スッポンの脂肪組織から抽出した脂質の性状は生体にとつて有害な性質を持つものであることは疑いを入れない。特に異常な点は粘度，比重，酸価，過酸化物，酸化酸などが甚だしく高い値を示したことである。なかでも酸化酸が 5～9%，過酸化物酸素が 0.20～0.40 g/kg O_2 という高い値を示した事実については，改めて動物試検を行うまでもなく，金田ら[2),3)]の研究結果からみて，その毒性を無視することはできないであろう。

一体これらの有害脂肪が何に由来して蓄積されるに至つたかということが問題であるが，経路は二通りに考えられる。一つは餌料として経口的に摂取された変性脂肪が徐々に体内に蓄積されていつたか，あるいは体内で二次的な変性作用をうけて生成されるに至つたかのいずれかであろう。しかし後者の場合のように正常な体脂肪が生体組織内において異常な酸化作用をうけて著量の過酸化物や酸化酸を蓄積するという機作は到底考えることができない。一応前者の場合を妥当な経路と考えるが，それにしても幾多の疑問点がある。

まず第一は餌料として摂取された変性脂質が有害作用があるにもかかわらず，分解排除されることなしに体内に蓄積されたという疑問である。個体が健全である限り，これらの有害物質は肝臓機能によつて選択排除されるはずである。それにもかかわらず，有害な脂質が体内に蓄積されたとすれば，肝臓機能に障害を生じたためではあるまいか，

金田ら[2)]の研究によると白ネズミに経口投与した過酸化物が肝臓や筋肉中にかなり見出されると報告している。ここに用いたスッポンの場合にも経口投与した変敗油の量が肝臓機能に障害を生ぜしめるほど多量である場合には，当然病変の原因となるであろう。しかし比較的少量づつの変敗油が餌料として継続投与された場合にはそのなかの有害成分のために肝臓自体の機能が徐々に慢性的障害をうけ，遂には有害物質を選択排除する機能を失い，有害な脂質をそのまま体内に蓄積するに至つたものであろうと考える。

調査した検体の油脂特性は表に示したとおりであるが，正常のものと病変のものとの間に判然とした区別があつて，両者の中間に位する程度の軽い病変度を示す試料は見出されなかつた。この事実は一見不可解のようであるが，肝臓の機能障害がある限界点を越えた場合にはじめて有害脂質の蓄積がはじまるものと考えれば理解できる。近年の研究によつて動物体内の貯蔵脂肪の大部分が比較的短時日の間に置換され更新されているという事実が明らかにされている。このことからみても，肝臓に対する障害作用がある限界点を越えたときにはじめて有害脂質の蓄積がはじまり，比較的に短時日の間に病変を呈してくるものであろう。

餌料として与えた蚕蛹のなかにどの程度の有害脂質を含んでいるかという問題は，病因と重要な関係があると思われる。ところが病気の発生したスッポンに対して実際に投与した餌料蛹の残物がなく，これを入手して検定することができなかつた。Table 4 に示した蚕蛹油の測定値のうち3例は調製後 1～2 カ月を経過した比較的に新しい乾燥蛹から抽出したものについての値であつて，酸価が幾分高い以外には，特別な異状は示していない。これに対して Table 4 中に示した1例（宮崎県産搾干蛹）は調製後1年以上の長期貯蔵を行つた乾燥蛹から抽出して得た蚕蛹油であるが，その性状は甚だしく異常であつて，特に色，粘度，比重，酸価，過酸化物，酸化酸などの値は著しい悪変を示している。これらの測定値は病変スッポン油のそれに近いか，あるいはそれ以上に高い値を示し，発病したスッポンの脂肪代謝異常と密接な関係のあることを示すものと考える。水産の養殖餌料として古い乾燥蛹を用いることの可否について研究を要する事実である。

以上のべた諸原因の他に，餌料組成とはまつたく無関係の原因によつて肝臓機能に障害を生じ，そのために病変を生ずるという場合も考えられるが，寄生虫，伝染病などによる障害の徴候はまつたく認められない。

同一池内において同一条件で飼育されたスッポンのうちに発病するものと発病しないものとが混在するという事実に対しては，幾分の疑問もあるが，投与された餌料が乾燥蛹（丸干蛹，搾干蛹）のみではなく，鮮魚肉と交互に投与されている。したがつて個体の習癖によつて何れかを偏食することもあり得る。そうした場合乾燥蛹を偏食した個体に発病の可能性の多いことが予想される。

なお最後に附言しておく必要のある事実は，スッポンと混養されていて蛹を主餌料としているコイ，フナなどの魚類が何らの異状を示さないという事実であるが，その原因はこれらの魚類が雑食性であつて，植物性餌料をも摂取するためではないかと想像される。スッポンは完全な動物食性であつて，植物性餌料は全々摂取しない。

本報にのべたスッポンの病変がこのような食性に関係があり，しかも偏食した乾燥蛹の脂質にその病因があるとするならば，このように悪変した脂質を含む餌料を与えることによつて健全な個体に病変を発生せしめ得るはずである。この点については今後の研究にまつ。

要　　約

病変のあらわれたスッポンの硬変した脂肪組織から抽出して得た脂質の性状を正常なものと比較し，ある程度病因を知ることができた。

病体の脂肪組織から得た脂質は甚だしく異常な性状を示した。特に比重 (0.94～0.96)，酸価 (2.4～9.2)，過酸化物態酸素 (0.19～0.38 g/kg O_2)，酸化酸 (5.3～9.0%) などの数値は正常なスッポン油の性状と甚しく相異している。これらの他に粘度，色調なども異常であつたが，鹸化物，沃素価，不鹸化物，表面張力などは大差がなかつた。

病体の脂肪組織中に多量に蓄積されている脂質が，このように異常な性状を有することから，病変の根源はこれらの悪質な脂質の体内蓄積のためであることは疑いない。餌料として経口的に摂取された油脂中に悪質な変性脂質が含まれていて，その有害作用のために肝臓，腎臓などに慢性的な機能障害を生じ，有害物質を分解排除する機能を失つて体内に蓄積されるに至つたためであろうと推定された。

乾燥蛹が古くなると，そのなかに含まれている脂質は甚だしく変敗して有害成分を含むようになるという事実から，スッポンの餌料として過剰投与された乾燥蛹を偏食したことに原因があるものと認めた。

文　　献

1) 福田博業・木村正雄： 本誌，**26**，1118 (1960).
2) 金田尚志，他： 本誌，**20**，658 (1954).
3) 金田尚志，他： 本誌，**20**，664 (1954).
4) 辻本満丸： 実用油脂便覧，p. 329.

コイ卵の脂質—II.
レシチンについて

五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男

(1960年6月28日受理)

EGG LIPIDS OF A CARP, *CYPRINUS CARPIO*—II- LECITHIN FROM CARP EGG*

Hisanao IGARASHI, Kôichi ZAMA and Muneo KATADA**

Lecithin was isolated from carp egg; yield 2.40%, P 3.90%, glycerol 11.41%, choline 14.82%, and iodine no. 117.2.

Composition of the component fatty acids of lecithin presented in Table 3 showed to be not so much different from those of salmon or hen eggs. It can therefore be supposed that the fatty acid composition of animal egg-lecithins is less affected by the body depot fats while those of fatty oils in eggs depend on their body fats.

前報[1]においてコイ卵の油脂の成分について報告したが，本報にてはレシチンについて得た結果をのべる。レシチンの構成脂肪酸の組成は油脂のそれとは異なり，C_{22} の高度不飽和脂肪酸の含量が高く，海産魚類の卵レシチンとあまり差のない性状を示した。

実験および結果

試料，脂質抽出操作は前報にのべたものと同様である。沃素価は WIJS 法，N はミクロケルダール法，P は FISKE・SUBBAROW[2]，グリセリンは BLIX[3]，コリンは GLICK[4] の方法によりそれぞれ測定した。

(1) レシチンの分離

コイ卵 1560g をアセトンで抽出，残渣を熱エタノールで抽出した。抽出物をそれぞれアセトンで分別し，アセトン可溶性脂質（油脂）32.1g およびアセトン不溶性脂質 64.5g を得た。アセトン不溶性脂質を 10 倍量の 95% エタノールに溶解，少量の不溶物を除き，上澄液に塩化カドミウムのエタノール飽和溶液をもはや沈澱が生じなくなるまで加えて氷室に1夜放置した。次いで沈澱を吸引沪別し，乾燥して燐脂質の塩化カドミウム複塩 71g を得た。この複塩を 1l のクロロホルムに溶解，等容の 30% エタノールと振盪して塩化カドミウムをエタノール層に移す操作をくりかえして完全に塩化カドミウムを除いた。クロロホルム溶液からは溶媒を溜去して遊離燐脂質 50g を得，これを 95% エタノールに溶解して 3% 溶液とした。この溶液を3等分し，そのおのおのをアルミナカラム (3×40cm，メルク製アルミナを 400°C に2時間加熱した) を通過せしめたのち少量のエタノールで溶出，流下液を合一してエタノールを溜去，減圧で乾燥して精製レシチンを得た。収量 37.5g (生鮮物より 2.40%)。

(分析結果) P 3.90%, N 1.87%, コリン 14.82%, グリセリン 11.41%, 沃素価 117.2, N/P 1.06, コリン/P 0.97, グリセリン/P 0.98.

---

* 水産動物燐脂質に関する研究—XXII. (Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals-XXII).

** 北海道大学水産学部水産化学教室 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate).

（2） レシチンの構成脂肪酸

レシチン 32.5g を 2N 水酸化カリウム・エタノール溶液と1時間還流して加水分解し，脂肪酸 19.6g を得た。これは中和価 201.3，沃素価 172.9 を示した。次いで脂肪酸をメチルエステル（鹼化価 190.5，沃素価 162.8）とし，その 18.2g を精密に分溜して Table 1 の結果を得た。これらの各溜分エステルを 20 倍量のアセトンに溶解，10 倍量の過マンガン酸カリウムを加え 2～4 時間還流して不飽和エステルを酸化した。アセトンを溜去したのち水を加えて亜硫酸ガスでマンガン化合物を還元し，エーテルで飽和エステルを抽出した。エーテル溶液は水洗後炭酸ナトリウム溶液で洗い，水洗，乾燥後エーテルを溜去して飽和酸メチルエステルを得た。飽和酸メチルエステルの収量，鹼化当量およびこれらより算出した不飽和酸エステルの諸数値を Table 2 に示す。次に Table 1 および 2 から計算して得られたコイ卵レシチンの脂肪酸の組成を Table 3 に示す。

Table 1. Fractional distillation of the mixed methyl esters of lecithin from carp egg.

Fraction	B. p., °C/2 mmHg	Yield		Sapon. no.	Sapon. equiv.	Iodine no.
		g	%			
1	140～150	2.3	12.6	211.7	265.1	45.7
2	150～155	2.3	12.6	201.0	279.1	49.1
3	155～159	2.3	12.6	196.6	285.4	64.5
4	159～164	2.1	11.6	191.3	293.3	90.5
5	164～170	1.2	6.6	186.7	300.4	129.6
6	170～180	1.9	10.4	185.3	302.9	195.3
7	180～190	1.9	10.4	180.3	311.3	271.7
8	190～200	1.7	9.4	170.9	328.4	329.2
9	200～210	0.8	4.4	170.7	328.8	336.5
10	Residue	1.7	9.4	168.9	332.3	332.9

Table 2. Saturated and unsaturated esters of the fatty acid of lecithin from carp egg.

Fraction	Saturated ester			Unsaturated ester				
	Yield, %	Sapon. equiv.	C no. of acid	Yield, %	Sapon. equiv.	Iodine no.	C no. of acid	Unsaturation, −H
1	59.7	260.5	15.3	40.3	271.8	113.4	16.3	2.4
2	52.2	271.7	16.1	47.8	287.2	102.8	17.4	2.3
3	45.5	278.6	16.6	54.5	291.2	118.4	17.7	2.7
4	41.5	286.6	17.2	58.5	298.0	154.7	18.2	3.6
5	19.6	293.1	17.6	80.4	302.2	161.2	18.5	3.8
6	15.4	294.6	17.7	84.6	303.2	230.8	18.7	5.5
7	9.4	303.1	18.3	90.6	312.1	299.9	19.5	7.4
8	6.3	320.3	19.6	93.7	330.0	351.3	20.9	9.1
9	3.1	322.3	19.7	96.9	329.0	347.2	20.8	9.0
10	0	—	—	—	332.3	332.9	21.0	8.7

Table 3. Fatty acid of lecithin from carp egg.

Saturated, %					Unsaturated, %*				
C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	Total	C_{16}	C_{18}	C_{20}	C_{22}	Total
2.6	17.7	8.1	0.8	29.2	7.1 (2.2)	29.1 (3.2)	24.2 (8.0)	10.4 (9.8)	70.8

* The numbers in parentheses are a measure of the unsaturation and indicate the number of atoms of hydrogen required to saturate the fatty acid.

考　　察

考察を加えるにあたり，比較のために前報[1]のコイ卵の油脂の脂肪酸組成およびさきに著者らにより報告されたサケ卵[5]，RIEMENSCHNEIDER らの行なつたニワトリ卵[6]の結果をとりまとめて Table 4 に示した。これにより明らかなように油脂（グリセリド部）の脂肪酸組成はコイでは LOVERN[7] のいわゆる淡水魚体脂肪の型をあらわし，C_{22} の高度不飽和酸をほとんど含まない。サケ卵油脂は LOVERN[7] による海水産魚類体脂肪の分布を示していて約 10% の C_{22} 高度不飽和酸（平均不飽和度はペンタエン酸）を含み，ニワトリ卵ではいわゆる陸上動物脂の組成を示しており，トリエン以上の不飽和酸をほとんど含まない。このように卵のグリセリド部の脂肪酸の組成の型は動物の種によりはなはだしく異り，その傾向は親である動物間の相違に平行している。すなわち卵のグリセリド部の脂肪酸組成は母体の蓄積脂肪の脂肪酸組成との間にははなはだしいへだたりがみとめられない。このことから蓄積脂肪が分解→再合成の段階を経ずに卵に移行することが推測される。しかしながらレシチンの構成脂肪酸の組成をみるとこの３種の卵レシチンの間の差は母体の蓄積脂肪および卵油脂においてみとめられた相違に比較すればきわめて微々たるものであつて，特に卵レシチンがいづれも C_{22} の高度不飽和酸をかならず 10% 以上含んでいることおよび約 30% 以上の飽和酸を含むことなどの共通点が見出される。この意義についてはここで明らかにすることはいまだ不可能であるが，著者ら[8]がさきにカニ卵の発生過程中において卵脂質中の高度不飽和酸が選択的に消費されることをみとめたことなどからして，発生中の脂質代謝ないしエネルギー代謝においてこのような分布形態をとつている脂肪酸混合物を必要とする段階があるものと考えられる。

Table 4. Fatty acid composition of egg lipids.

Animal	Fraction	Saturated, %					Unsaturated, %†					
		C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	Total	C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	C_{22}	Total
Carp, *Cyprinus carpio**	Fatty oil	2.2	17.8	8.1	0.2	28.3	—	5.2 (2.7)	40.0 (3.7)	25.0 (7.0)	1.5 (8.0)	71.7
	Lecithin	2.6	17.7	8.1	0.8	29.2	—	7.1 (2.2)	29.1 (3.2)	24.2 (8.0)	10.4 (9.8)	70.8
Salmon, *Oncorhynchus keta***	Fatty oil	4.8	11.1	3.5	0.5	19.9	0.2 (2.0)	13.2 (2.5)	36.2 (3.0)	20.1 (8.5)	10.4 (10.0)	80.1
	Lecithin	3.5	21.6	8.7	—	33.8	—	5.9 (2.3)	35.6 (3.2)	12.2 (8.6)	12.5 (10.1)	66.2
Hen***	Fatty oil	0.7	25.2	7.5	—	33.4	—	3.3 (2.0)	61.0 (2.3)	—	2.3 (10.0)	66.6
	Lecithin	—	31.8	4.1	—	35.9	—	—	50.8 (2.3)	—	13.3 (10.0)	64.1

* Present Study.　** ZAMA, KATADA and IGARASHI[5].　*** RIEMENSCHNEIDER, ELLIS and TITUS[6].

† The numbers in parentheses are a measure of the unsaturation and indicate the number of atoms of hydrogen required to saturate the fatty acid.

総　　括

コイ卵のレシチンの性状，特に構成脂肪酸の組成について検討し，この結果をサケ卵およびニワトリ卵の脂質の脂肪酸組成と比較した。油脂（グリセリド部）の脂肪酸の構成は淡水魚，海水魚，トリの体脂肪についての一般的な数値をそれぞれ示した[1]のに反し，レシチンの脂肪酸組成は動物の種類によつてもはなはだしい差異を示さないことが知られた。

本研究は文部省科学研究総合研究費により行なつた。

文　　献

1) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男： 本誌，**26**, 326 (1960).
2) Fiske, C. H., Subbarow, Y. C.: *J. Biol. Chem.*, **81**, 629 (1929).
3) Blix, G.: *Mikrochim. Acta*, **1**, 75 (1937).
4) Glick, D.: *J. Biol. Chem.*, **156**, 643 (1944).
5) 座間宏一・片田宗男・五十嵐久尚： 本誌，**24**, 569, 739 (1958～9).
6) Riemenschneider, R. W., Ellis, N. R., Titus, H. W.: *J. Biol. Chem.*, **126**, 255 (1938).
7) Lovern, J. A.: *Biochem. J.*, **26**, 1978 (1932); **28**, 1961 (1934); **29**, 847 (1935); **30**, 387 (1936); **31**, 755 (1937); **32**, 1214 (1938).
8) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男： 本誌，**22**, 358, 363 (1956); 農化，**31**, 4, 8 (1957).

CONFIRMATION OF SAPONIN AS A TOXIC PRINCIPLE OF STARFISH*

Yoshiro HASHIMOTO and Takeshi YASUMOTO

Received July 14, 1960

The manifold toxicity of starfish has been established by many workers, who recognized on the starfish extracts a depressing action on pulsation of the isolated oyster heart[1,2], hindrance of ecdysis of fly maggots[3-5] and toxicity to fish[6,7] or warm-blooded animals. It was reported by WOLFF[8], who surveyed various kinds of marine animal at the time of mussel poisoning case at the Wilhelmshaven in 1886, that starfish extracts killed rabbits when injected. There is also an old description on the serious intoxication of dogs and cats orally fed cooked starfish[9]. In feeding tests on starfish meal with chicks[10,11], however, no such severe intoxication was observed, whereas slightly or severely retarded growth resulted when chicks were fed diets containing intermediate or very high levels of starfish meal. This ill effect was considered to be attributable to excess of calcium, unbalanced ratio of calcium to phosphorous or vitamin B_1 deficiency due to thiaminase in dried starfish meal. On the other hand, neither intoxication nor retarded growth was observed when rats were fed diets containing starfish solubles[12]. Thus, toxicity of starfish to warm-blooded animals is considerably different according to authors.

The toxic principle has remained quite unidentified, although IMAI and his co-workers[2] attempted isolation and described some chemical properties. Complicated descriptions on the toxicity to higher animals and the lack of knowledge on the toxic principle seem to have been obstacles to extensive utilization of starfish meal or solubles as feedstuffs, which will help extermination of this harmful animal from culture beds for valuable shellfishes.

While keeping starfish in an aquarium, the present authors once observed that the culture water became strongly foaming when they were dead by an accident. This phenomenon led us to suspect the occurrence of saponin in starfish and to isolate from dried starfish meal a toxic substance which reveals sufficient chemical and pharmacological properties of saponin, by applying the method developed by WALL for extraction of plant saponins.

Experimental

Extraction of toxic substance

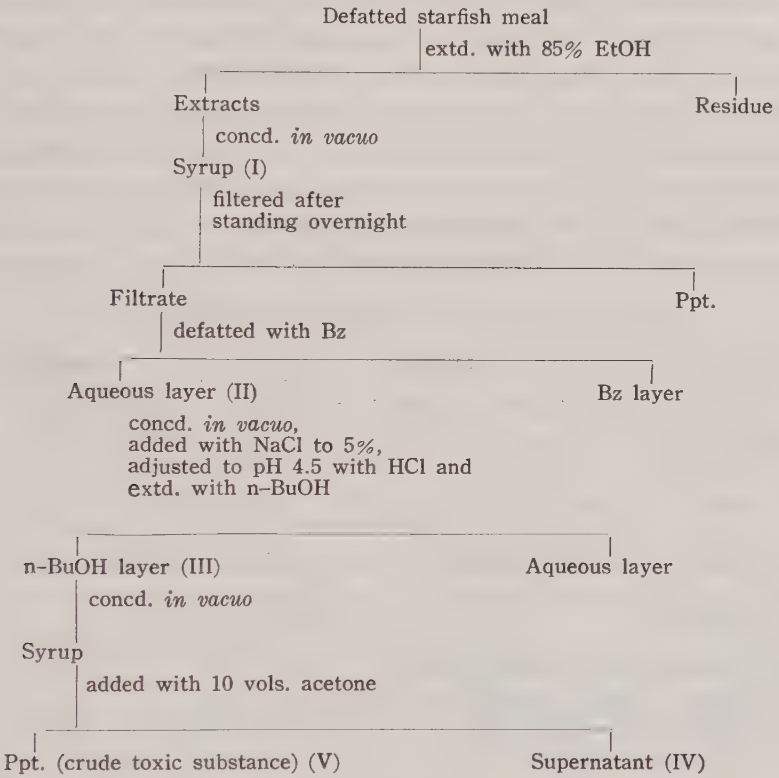
Dried starfish, *Asterina pectinifera*, obtained by courtesy of Mr. MIWA in the Hokkaido Regional Fisheries Institute, were crushed and defatted with ether for 24

* Studies on marine biotoxins. II.

** Laboratory of Fisheries Chemistry, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo)
(東京大学農学部： 橋本芳郎，安元健)

hours. Extraction procedure developed by WALL[13] was applied to the defatted meal, as shown in Fig. 1. The butanol extracts were concentrated *in vacuo* to syrup, to which ten volumes of acetone were added to precipitate the toxic substance. After

Fig. 1. Extraction of saponin from star fish meal



standing overnight, precipitates were collected by centrifugation and dried *in vacuo* at 60°C. The yield of solids and toxicity expressed by hemolytic index (H.I.) is given in Table 1. About 4 grams of crude toxic substance was obtained from 500 g. of starting defatted meal.

Table 1. Yield of toxic substance from 500 g. of dried and defatted meal, expressed as hemolytic index and weight of solids.

	I 85% EtOH extracts	II Aqueous layer after benzene extraction	III n-BuOH extracts	IV Me_2CO supernatant	V Crude saponin
Total solids (g)	50.2	35.5	7.272	1.551	4.445
H.I. /g	1,185	1,590	5,530	781	6,993
Total H. I.	59,450	56,400	40,193	1,211	31,084
Recovery of total H.I.	100	95	67.7	2.0	53.7

Chemical properties

The substance was brown powder, soluble in water and aqueous alcohol, but not in ether, benzene and chloroform. In spot tests, it reacted with both steroid and sugar reagents, such as silicotungstic acid in ethanol[14], antimonium trichloride in chloroform, cinnamic aldehyde in ethanol[15], aniline hydrogen phthalate, and freshly prepared sodium metaperiodide in potassium permanganate solution[16]. The aqueous solution remarkably foamed in a high dilution and reduced the Fehling solution after hydrolysis but not before. Hydrolysis in which 50 mg. of the substance was boiled in 5 ml. of 2 N hydrochloric acid for 3 hours resulted in the formation of insoluble tarry precipitates and free sugars. The supernatant was freed from chloride ion by passing through an ion-exchange resin (IR 4B) column and condensed to examine component sugars by paper chromatography. The results are shkown in Table 2. Four spots were recognized, three of which resembled in both Rf value and coloration to glucose, rhamnose and xylose respectively. The last one seems to be unhydrolysed saponin.

Table 2. Paper-chromatography of sugar components

		Sample				Reference		
		Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4	Glucose	Xylose	Rhamnose
Rf value	Solv. 1	—	0.16	0.26	0.37	0.16	—	0.37
	Solv. 2	0.06	0.12	0.20	0.32	0.13	0.20	0.33
Reagent	Reagent 1	red	brown	red	brown	brown	red	yellowish brown
	Reagent 2	yellowish brown						

Solvent 1: n-BuOH :EtOH :Water (4:1:5)
2: n-BuAc: AcOH :n-BuOH :MeOH :Water (3:2:2:1:1)
Reagent 1: Aniline hydrogen phthalate
2: p-Anisidine phosphate

Pharmacological properties

The substance was highly toxic to fish and had a strong hemolytic action. The hemolytic index was about 7,000, when estimated by the method of NISHIDA and FUJITA[17], using the rabbit blood, while that of Merck's saponin was 33,000. The relationship between the time required to kill killifish, *Oryzias latipes*, and the concentration of the dialyzed crude saponin was examined. Five individuals of killifish were placed in beakers containing 50 ml. of distilled water, to which different amounts of crude toxin were added. Experiments with Merck's saponin were carried out in the same way. The results are shown in Fig. 2, which indicates that the effect of the crude toxin on the fish resembles to that of Merck's saponin in having an abrupt threshold, but differs in stronger toxicity when compared on the same level of hemolytic activity.

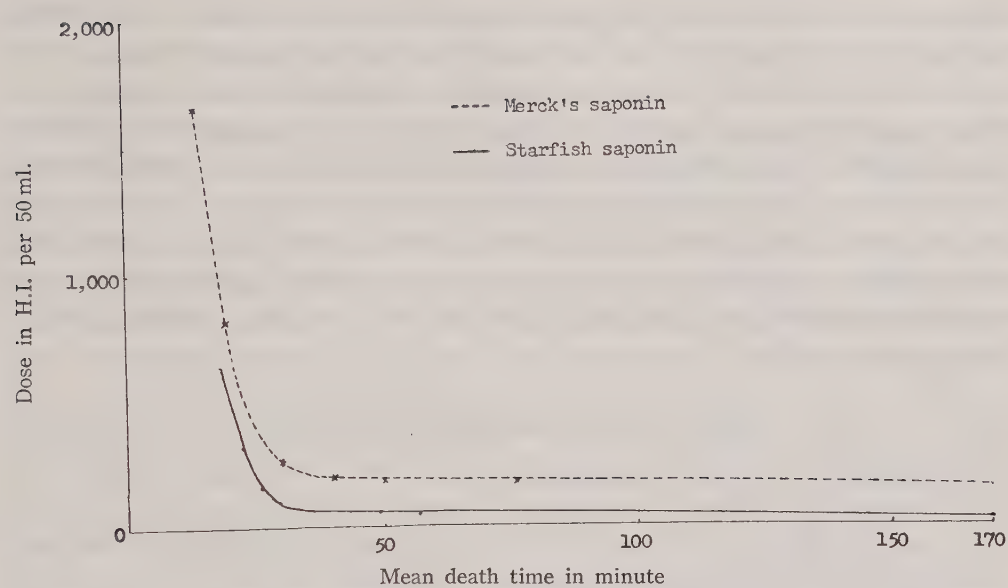


Fig 2. Dose-death-time relationship in killifish for Merck's saponin and dialized crude Toxic substance

Some attempts to purify the toxic substance

Dialysis: It is a well-known fact that saponin is hardly dialyzed. Salts and other impurities of small molecular weight were effectively removed from the aqueous solution of crude toxic substance, when dialyzed through cellophane membrane against distilled water for 6 hours in stirring, until the test for Cl^- became negative. The resultant product, comprising 48 per cent of the starting solids, retained 90 per cent of hemolytic activity, and the hemolytic index rose to 13,000.

Chromatography: Five grams of Merck's alumina (Brockmann), activated by

Table 3. Alumina chromatography of crude toxic substance

Solvent		Solid		H.I.		
	ml	mg	Recovery	H.I./g	Total H. I.	Recovery of total H.I.
MeOH	150	56.0	22.4%	14,280	797	25.1%
n-BuOH	50	45.0	82.0%	12,700	571	76.5%
	50	77.6		11,460	873	
	50	39.8		18,250	727	
	50	24.0		10,410	250	
	50	9.9		0	0	
	50	9.4		0	0	

Al_2O_3: 10 g., Sample: dialyzed crude saponin 249.5 mg., H.I./g: 12,760, Total H.I.: 3,168

heating at 250°C. for 2 hours, was used as an absorbent. A half gram of the dialyzed crude saponin was dissolved in as small quantity of methanol as possible, and placed on a column (0.7×7.0 cm.), which was washed with absolute methanol until no more solid was eluted (methanol fraction), and successively with water-saturated n-butanol (butanol fraction). The effluents were collected in each 10 ml. portion which was then evaporated to dryness in a vacuum and the solids were weighed. The results are given in Table 3. When rechromatographed separately in the same way, these fraction showed the same behavior as in the first chromatography, clearly showing that the crude toxic substance is composed of two chemically different saponins. The results are given in Table 4.

Table 4–a. Rechromatography of MeOH fraction

Solvent		Solid		H. I.		
	ml	mg	Recovery	H. I.	Total H.I.	Recovery of total H.I.
MeOH	50	36.5	98.5%	13,700	674	94.5%
	50	12.7				
n–BuOH	100	5.0	10 %	0	0	0 %

Sample: 50.0 mg., H. I./g: 14,280, Total H. I.: 714

Table 4–b. Rechromatography of BuOH fraction

Solvent		Solid		H. I.		
	ml	mg	Recovery	H.I./g	Total H. I.	Recovery of total H.I.
MeOH	50	1.1	6.4%	0	0	0 %
	56	2.0		0	0	0 %
n–BuOH	30	28.7	114.0%	10,000	287	70.0 %
	46	21.5		5,820	125	
	20	5.0		3,640	18	

Sample: 48.4 mg., H. I./g: 12,700, Total H. I.: 615

Discussion

It has been proved by the present authors that a starfish, *Asterina pectinifera*, contains saponin as the toxic component. In the light of wide-ranged pharmacological activities of plant saponins, it seems very likely that this toxic component is responsible for the most part of manifold toxicity of starfish. The occurrence of saponin may offer some problems on the utilization of starfish as feedstuffs or fertilizer. Although absorption of saponin through digestive truct is so slight that the toxicity is

far less in oral administration than in injection, it has been recognized that the feeding of saponin in higher levels causes retardation of growth in chicks[18-20], vomiting in many animals and bloating of the rumen in sheep[21]. It has been also reported that alfalfa saponin suppresses almost all soil microbes and the consequential lowering of biogenic potential of the soil results in inhibition of plant growth[22]. Therefore, in processing of starfish meal or solubles the content of saponin should always be taken in consideration and some attempts may be necessary to eliminate this toxic factor.

From biochemical point of view, the occurrence of saponin in starfish is very interesting, as the first saponin of animal origin, holothurin, was isolated by YAMANOUCHI[7] and NIGRELLI[23] independently from the seacucumber, a member of the same phylum, *Echinodermata*. By the extensive study of SOBOTKA[24] and his colleagues, holothurin is shown to be further separable into two component: cholesterol precipitable and non-precipitable. The former component is designated holothurin **A**, and proved to be mixture of several closely related sulfate ester glycosides each of which contains a steroid aglycone, each one molecule of four kinds of sugar, and one molecule of sulfuric acid as the sodium salt. As sugar components, glucose, rhamnose and xylose were tentatively postulated by paper chromatography in their earlier work[25], but they were identified as glucose, xylose, glucomethylose and 3-O-methylglucose by isolation and confirmation of each component. The marked peculiarity of holothurin **A**, especially in sugar components, has been established.

As shown in Table 2, the paper chromatogram closely resembling to that of holothurin was obtained on the hydrolyzates of starfish saponin. This may suggest the resemblance of starfish saponin to holothurin and also may indicate the need of further extensive investigation to identify sugar components.

The starfish saponin was shown by alumina chromatography to consist of two different components, the chemical properties of which will be studied in future.

References

1) SAWANO E. and MITSUGI K.: Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ. Ser. 4 (Biol.) 7, No. 1 (1932).
2) IMAI T., HATANAKA S. and OSHIMA S.: Bull. Jap. Soc. of Sci. Fish., Tokoku Branch 7, No. 1~2 (1956).
3) ANDO Y. and HASEGAWA O.: Rept. of Hokkaido Hygienic Institute, Ser. 7, 67 (1955).
4) ANDO Y.: J. Hokkaido Fish. Sci. Institute, Ser. 11 (7) 29 (1954).
5) AKIYA R.: Hokkaido Suishi Jigyo Jumpo, No. 361, 10 (1937).
6) ASANO M.: Unpublished data (1949).
7) YAMANOUCHI T.: Publ. Seto Mar. Biol. Lab., IV (2~3), 183 (1955).
8) WOLFF M.: Virchows Archiv., **104**, 180 (1886).
9) FURTH O.V.: "Vergleichende Chemische Physiologie der Niederen Tiere.", P. 306 (1903).
10) WHITSON and TITUS W.H.: Bull Bingham Oceanographic Collection, IX, 24 (1945).
11) BAUGHMAN N. L.: Technological Studies of the Starfish, Fish and Wildlife Service, U. S. Dep. Interior Fish Leaflet (1951)
12) HIGASHI H., MURAYAMA S., YANASE M. and TABEI K.: This Journal, **21**, 281 (1955).
13) WALL M. E., KRIDER M. M., ROTHMAN E. S. and EDDY R.: J. Biol. Chem., **198**, 533 (1952).

14) KLYNE W.: "The Chemistry of the Steroids.", P. 194 (1957).
15) SANNIE C., HEITZ S. and LAPIN H.: Compt. rend., **233**, 1670 (1951).
16) LEMIEUX R. U. and BAUER H. F.: Anal. Chem. **26**, 920 (1954).
17) FUJITA M. and NISHIMOTO K.: J. Pharm. Soc. Japan, **72**, 1645 (1952).
18) BERTON W. H. and BIRD H. R.; Poultry Sci., **33**, 239 (1954). C. A., **48**, 10147.
19) ANDERSON J. O.: Poultry Sci., **36**, 873 (1957). C. A., **52**, 2194.
20) GEORGE C. P. and KUMMEROW F. A.: Science, **120**, 224 (1954).
21) IVAN L. L., DAVID R. R., TERTELL R. T., WHITEMORE G. E., SHILKOP W. T., DONGHERTY R. W., THOMPSON C. R., ATTA G. R. V., BICKOFF E. M., WALTER E. D., LIVINGSTON A. G., GUGGOLZ J., WILSON R. H., SIDEMAN M. B. and Eds F.D.: U. S. Dept. Agr., Tech. Bull. No. 1161, 83 (1957). C. A. **51**, 13169.
22) MISHUSTIN E. N. and NAUMOVA A. N.: Izvest. Akad. Nauk S.S.S.R., Ser. Biol. 1955 No. 6, 3. C. A., **50**, 3571.
23) NIGRELLI R. F.: Zoologica (New York) **37**, 89 (1952).
24) CHANLEY J. D., LEDEEN R., WAX J., NIGRELLI R. F. and SOBOTKA H.: J. Am. Chem. Soc., **81**, 5180 (1959).
25) CHANLEY J. D., KOHN S. K., NIGRELLI R. F. and SOBOTKA H.: Zoologica (New York), **40**, (2) 99 (1955).

抄　　録

携帯用電気衝撃器　A. A. BLAIR: *Canadian Fish Culturist*, No. 23 (1958).　Newfoundland でサケの生態観測のため，生きたまま魚を捕獲する必要があり，HASKELL (1954) が考えた電気衝撃器と同種のものが試作された。完成された装備は重量 44 ポンドで，1人で容易に運搬できる。バッテリーは6V自動車用発電器，電極は 1/2 インチ銅製チューブ，メインヒューズは 30 アンペア発電器から送られる電力は，バイブレターで交流に，トランスで高圧に，整流器で 240～415 ボルトの直流高電圧に変えられ電極に達する。両極の間隔が6インチから4フィートの間が，衝撃器の有効範囲となり，6インチ以下に接近すると，安全ヒューズが吹ぶようになつている。また，バッテリー電圧が 5.1 ボルト，18アンペア以下に下がると器械は作用しなくなる。最も能率的なのは両極が6インチから3フイートの間隔で，流れにさかのぼらない方がよい。1人が器械を動かし，1人が魚を集めるので2人1組となる。流れのないきれいな水ではタモ網を用い，急流あるいは濁水では器械から20フイート離れてまき網でとる。魚は陽極の1フイート以内で麻痺する。ときにはまき網の方に導かれることもある。また，麻痺状態からの回復は早い。バッテリーは2台で1日中の操業に間に合う。価格は 120 ドルである。

（井上）

素堀の長池におけるカワマス，ブラウンマス，ニジマス稚魚の生残率の比較　K. BUSS and R. MCCREARY: *Prog. Fish-Cult.*, **22** (3), 99～102 (1960).　天然河川に類似した素堀の長池 (846×3 m) に，上記3種のマス稚魚を一諸に移殖して，無投餌で1年間飼育した結果はつぎのようになつた。

項目 ＼ 魚種	移殖時 '57 V～VI 尾数	移殖時 '57 V～VI 重量 (kg)	取揚時 '58 VI 尾数	取揚時 '58 VI 重量 (kg)
ニジマス	20,000	235.9	7,926	133.9
ブラウン	20,000	31.1	4,536	46.4
カワマス	20,000	65.8	19	0.1

なお，飼育水温は 0°～25.5°C, pH 8.8, 水量 19～34 kl/min であつた。ニジマスの生残率は大きかつたが，魚は衰せてピンヘッドのものが多く，更に1年間生残できるかどうかは疑問である。カワマスは健康魚であつたが，わずか 0.1% の生残率に過ぎなかつた。ブラウンマスは成長良好で健康魚であり，更に1年間飼育を続けたら，おそらく優占種となつたであろう。ブラウンの数の減耗が大きかつたのは，移殖時の大きさが他種に比べ小さかつたためと考えられる。

Allegheny National Forest における研究によると，ブラウンの生息している河川にカワマスを移殖することは困難であるという。種の構成や生存率に重要な約割を果たしているのは，種間競争であることは明らかである。3種のマス稚魚を同じ河川に移殖することは，時間と金の浪費である。移殖に際しては，その水域に最適の魚種を決定し，他種を排除したのち，その種を移殖することが望ましい。

（野村稔）

Maryland 大西洋岸に起つたヒトデ *Asterias forbesi* の大量斃死　F. W. SIELING: *Chesapeake Science*, 1 (1), 73～74 (1960).　1960 年2月5日，2日間吹き続けた北東の強風が止んで Maryland 大西洋岸に大量の *A. forbesi* が打上げられた。斃死個体数は調査された Ocean City の入江附近で数百万にのぼつた。任意に採集された 215 個体の腕長組成の範囲は 5.5～23.0 cm で，10 cm と 17 cm にモードをもつ異なる年級群と考えられる2群が認められた。1959 年の夏および年末には Ocean City 附近で観測がはじまつて以来8年目にはじめて *A. forbesi* が大量発生し，カキの養殖されている浅い湾内には襲来しなかつたが沖合ではトロール網に大量入網して多大な支障をもたらした。*A. forbesi* とともに殻長 3.5～7.0 cm のホッキガイの1種 *Spisula solidissima* も大量に打上げられた。*A. forbesi* は Maryland 沖の *S. solidissima* の群生している場所でそれらを食害していたものであろう。*S. solidissima* の生息場は一般に 50 フィートかそれ以上の深さにあるが，そこから海岸にまで打上げられたことからも波の大きさ，力が推測できよう。当地の永年居住者もはじめてみる大量斃死であつた。

（鈴木秀）

魚梯容量に関する追実験 1957 年　C. H. ELLING: *Spec. Sci. Rep. Fish.*, No. 340, 1～16 (1960).　実験に使用された魚梯は Washington, Bonneville ダムに併設された水産技術調査研究所に設置され，幅4フィート，長さ 16 フィート，深さ 6.3 フィートのプールを6個連続した溢水式で各プール間の落差は1フィートすなわち勾配 1/16，隔壁は Dalles 型（平板でなく下流に向けて傾斜をつけたもの）でその上部水深は 0.8 フィート，潜口はなく総落水量は毎秒 11.8 立方フィートであつた。屋外と同じ明るさを保つため水銀燈 (1000 ワット) が用いられた。実験は 5，6 月中 60 分宛 5 回行なつた。Chinook salmon のみの場合は1分間最高 61 尾（平均 14 ポンド）が入口を通過，Blueback salmon, Steelhead trout が混在した場合1分間最高 165 尾（平均 9.2 ポンド）であつた。最下段のプールに入つた最大尾数は 178 で1尾当容量は 2.2 立方フィートであつた。溯上率と魚梯内の個体数との関係では，魚の密集は溯上率を低下することなく，むしろ

魚種組成によつて若干の差異を生ずるものと思われた。"fallback"（流されたり下流に向つて泳ぐもの）は下流3プールで 91 % の出現率をみた。これは入魚数とは関係なく他の要因によるものであらう。この魚梯では少なくなくとも1分間 50 尾（3魚種混合）以上通過可能で Bonneville ダム（上流出口の幅 42 フィート，下方は2つに分岐しおのおのの入口の幅 40 フィート）の1時間 4,296 尾に比べて非常に効果があることが認められた。（鈴木秀）

魚類の調査，管理の一手段としてのミクロヘマトクリット S. F. SNIESZKO: *Spec. Sci. Rep. Fish.*, No. 341, 1～15 (1960). 魚類の魚類の血液学的検査には赤血球数およびヘモグロビン濃度の測定が普通に行なわれ，ヘマトクリット法は血液を大量に要したためまれにしか用いられなかつた。本調査では主に養魚における品質管理のため稚魚でも採血可能な1滴 (20～40 μl) で測定し得るミクロヘマトクリット法によつて fingerling, yearling 期の正常 trout 3種約 300 尾について行なつた。方法は McGovern 等 (1955) の方法を若干修正したもので，採集直後の魚を麻酔 (tricaine methanesulfonate 1/2000～1/5000) し小型魚は尾柄部を切断，大型魚は直接心臓その他から採血し，ヘパリン化した毛細管（長さ 75 mm と 32 mm; 外径おのおの 1.2～1.4 mm, 0.8 mm) に導入し，バーナーで融封または粘土で密封し遠心分離器にかけた。得られたヘマトクリット値は Brook trout 45～50, Brown t. 39～44, Rainbow t. 45～53 であつた。その出現頻度は成長につれて一定の減少傾向が認められ，赤血球数およびヘモグロビン濃度との関係は他の脊椎動物と同じく一定であつた。ヘパリン化した毛細管に直接血液を導入したものと凝固阻止剤で処理された血液を入れたものとでは前者は後者の 7～18%高い値を示した。75 mm と 35 mm の毛細管では後者はやや低い値を示した。魚類における正常ヘマトクリット値の決定は困難だが異なる状態についての多くの資料から正常な範囲を見いだす必要がある。調査目的によつてはミクロヘマトクリット法は精密な血液学的検査とはいえないが正確，迅速および比較的誤差の少い方法であるため広く利用され，より簡単になれば一般的，地域的規準が得られやすいものと思われる。（鈴木秀）

英国産テングサ2種の生殖器官と果胞子体の構造と発生 PETERS S. DIXON: *Ann. Bot.*, N. S. 23 (91), 397～407 (1959). *Gelidium latifolium* (GREV.) BORN and THUR. および *G. pulchellum* (*TURN.*) KÜTZ. の精子嚢，造果器，果胞子体，四分胞子嚢の構造と発生について詳述し，KYLIN (1928) が *G. cartilagineum* について明らかにしたところと相異する点をあげている。とりわけ果胞子体の発生に関しては，従来 KYLIN の研究結果にしたがつて，造胞糸すなわち果胞子体は造果器から直接生ずるとされていた。しかし上記2種のテングサでは造胞糸は造果器が著しく増大して不規則な形の多核の細胞となつてから生ずるか，または更に周辺の栄養細胞と癒合したあとで生ずる。1コの fertile axes からは 10～30 コの造果器が生じるがそのなかには果胞子体を生じないで次第に変形してついには消滅してしまうものもある。おそらく KYLIN の見解はこのような造果器をみて推察した結果であろうと述べている。なおテングサ類における造果器と栄養細胞との癒合に関連して助細胞の定義を再検討する必要のあることを提議している。結局テングサ類には助細胞がないと判断し，この場合の癒合は必須でないことと，癒合する細胞が特定の細胞でないということとにもとずいて，この造果器の癒合を助細胞が分化する前の現象であろうと推論している。（三浦）

植物，動物，微生物から得られた Protease の混合による共存性 V. BAVISOTTO, C. MILLER and R. DEWANE: *Food Research*, **25**, 58～63 (1960). 植物性 (Papain, Ficin, Bromelain), 動物性 (Pepsin, Trypsin), 細菌性 (Protease 15), カビ (Rhozyme A 4, Rhozyme P 11) 等の Protease を二種類混合して，25°C および 40°C で 1.5 時間～24 時間 incubate すると，その活性度は混合したそれぞれの活性度の合量よりも減少する。その減少率は酵素の組合せにより著しく異なり，例外はあるが一般に Origin の同じものを混合した時は左程減少しないが，Origin の異なる場合では著しく減少した。また試料の大多数のものは incubate した温度の高い程，また時間の長い程活性が低下した。以上のことから，活性度の減少は各酵素の相互作用（相互消化）の結果であることが推定された。牛肉の軟化や醸造工程において各種の Protease の特性を活用するための組合せには上記のような制約を受けることがわかつた。（太田）

化学薬品による貝類捕食動物の駆除 V. L. LOOSANOFF, C. L. MACKENZIE and L. W. SHEARER: *Science*, **131**, 1523 (1960). 有用貝類を捕食動物から保護するための化学的新方法を述べている。捕食動物が養殖場へ侵入することを防ぐには化学薬品を混入した砂で周囲に防壁を造り，またすでに荒らされている区域には処理砂を散布して駆除するという簡単な方法である。使用する化学薬品としてはトリクロルエチレン，オルトジクロルベンゼン，パラジクロルベンゼン，トリクロルベンゼン，テトラクロルベンゼン，1-ナフチル-N-メチルカルバメート，2-クロル-1-ニトロプロパン等が有効で，特に 2-クロル-1-ニトロプロパンを含むジクロルベンゼンと 1-ナフチル-N-メチルカルバメートの混合物は穿孔性の腹足類，ヒトデおよびカニ類に強い毒性を示した。著者等は本法でかなりの実験的成果を得ているが実用化には，なお解決すべき多くの問題がある。たとえば実施場所とか捕食動物の種類に応じて防壁の構造，砂と化学薬品の混合比等の検討を要し，また底

質の性状，潮流の速度等も考慮しなければならない。特に食用貝の場合は化学薬品による汚染とそれが人体におよぼす影響を解明することが重要である。なお本法の原理を利用するとカキの病源菌である Dermocystidium の蔓延の阻止とか魚や人間の有害寄生虫の中間寄主となる淡水産巻貝の駆除も可能である。(太田)

単体サンゴ (*Fungia*) による海水からのグルコースの摂取 G.C. STEPHENS: *Science*, **131**, 1532 (1960). C^{14} で標式したグルコースを加えた海水中で *Fungia* を培養し，培養液の放射能強度の時間的変化より *Fungia* のグルコース摂取状況を検討している。

グルコース濃度 10 mg/*l* の海水 200 m*l* 中に培養した場合，培養液中のグルコース濃度は2時間後で約 6 mg，4時間後で約 4 mg，24 時間後で 1 mg と変化したが，24 時間後では培養液中に残存する C^{14} の一部が呼吸作用に由来する $C^{14}O_2$ の型になつているようである。このような変化は暗所でも，また培養液にストレプトマイシン (50 mg/*l*) を加えて微生物の繁殖を抑制した場合にも認められた。つぎにグルコース濃度（範囲 1〜40 mg/*l*) を変えて1時間後の摂取率を求めたところ 15〜37%（平均 20%）で，*Fungia* の酸素消費量よりみてもグルコースの環境濃度は 3.75〜7.25 mg/*l* で充分である。以上の結果から *Fungia* がグルコースを低濃度の溶液より摂取し得る能力のあることは明らかで，これをエネルギー源として利用するものと考えられる。しかし天然の海水中に含まれる可溶性炭水化物の量と種類ならびに海水中の可溶性有機物の水産動物に対する食物としての重要度については不明の点が多く，これらの解明は将来の研究にまちたい。(太田)

鮫 (*Mustellus canis*) の体滲透圧と眼球内水様液の形成 R.F. DOOLITTLE, C. THOMAS and W. STONE: *Science*, **132**, 36 (1960). *Mustellus canis* を用い，血漿と眼球内水様液の各成分量と滲透圧などを測定し，水様液形成の機構を論じている。尿素とトリメチルアミンオキサイド (TMAO) の含量は血漿が水様液より多く，両成分の各濃度比は血漿の場合をとすると，水様液では各々 0.93 と 0.88 で，両液間の尿素＋TMAO の濃度差はかなり大きく平均 34 m mole/1 kg (H_2O) である。他の各含有成分の濃度比よりみて前述の濃度差を縮小し得る唯一の成分は重炭酸イオンで，濃度比は血漿1に対し水様液 2.5（濃度差平均 9 m mole）である。これは同イオンが水様液に選択吸収され，滲透圧維持に重要な役目をなすことを示している。また氷点降下度で求めた滲透圧を濃度に換算すると，水様液は血漿より約 25 m mole 低く，化学分析値から求めた値とほぼ一致しているので，試料魚では血漿から眼球への水分移行が滲透圧勾配に逆つて行なわれると考え得る。つぎにカルボニックアンヒドラーゼは高等脊椎動物の水様液形成に重要な作用をなすといわれているが，軟骨魚は繊毛体を有する唯一の魚である。この繊毛体には哺乳類と同様に前述の酵素を含んでいる。試料魚の静脈に同酵素の特異的阻害剤であるアセトアブレアミッドを注射する重炭酸イオンの濃度比が1より小さくなる。また血漿と水様液の含有成分配分比にみられる特性が哺乳類の場合とかなり一致し，更に Na^{24} の血漿から水様液への浸透実験によると交替率は毎分約1%で，これは家兎で得られた値と同程度である。以上諸結果から試料魚における眼球内水様液の形成は哺乳類の場合と同様に重炭酸イオンとカルボニックアンヒドラーゼが関与した機構で行なわれると推察し得る。(太田)

Killifish (*Fundulus heteroclitus*) の melanin 生成に対するホルモンの影響 B. KOSTO, G.E. PICKFORD and M. FOSTER: *Endocrinology* **65**, 869〜881 (1959). さきに Pickford and Kosto (1957) は2種の脳下垂体ホルモンが Killifish の melanin 色素形成に関係することを見たが，ここに melanin 合成における dopa tyrosinase 酸素系に対する intermedin, prolactin の作用を観察し，intermedin は色素細胞の新生を刺戟するのに対して，prolactin の方は色素細胞の増殖には影響を与えずに melanin 合成を促進すること，かつ prolactin は intermedin の作用を増強するが，intermedin の方は prolactin に影響を与えぬ。アルカリ処理は intermedin の活性を約 10 倍に増強する。さらに ACTH の僅かに認められる色素細胞刺戟作用（これは prolactin で増強される）はその本来の MSH 類似の活性によることなどを明らかにした。

正常および脳下垂体除去（少なくも切除後6週間経過せるもの）した Killifish ♂ 約 10 匹を一群として供試。毎週3回腹腔内注射 4〜7 週間継続，毎回注射量は体重 1 g 当り 0.01 m*l* とし，prolactin は 10 *μ*g，ACTH は 0.45 I.U.，MSH は 4,000〜40,000 U. をそれぞれ投与。解剖は最後の注射の翌日に行なつた。

melanin assay: Foster, Cook and Stamas (1956) の変法による。すなわち，尾鰭の一部を alcohol-formalin 混液 (9 : 1) で固定，80% alcohol で洗滌，3% HNO_3 含有の 70% alcohol で脱石灰，alcohol および ether で脱水乾燥。この乾燥鰭一定量を取り thioglycolate solvent で水浴内（約 98°C）浸漬抽出する (solvent 1 m*l* 当り 1 mg の試料)。1時間放冷後抽出色素量を測定 (Klett units).

dopa tyrosinase 活性: 鰭の一部（体皮は反応せず）と dopa とを incubate して組織の黒色化する度合を測定。また O_2 消費の増加量の測定の二法を併用。

鰭を dopa とともに incubate した実験では O_2 消費と暗色化の度合との間にかなりの関係が存在することが認められた。また脳下垂体除去後（これは *in vivo* における褪色を進行させる）dopa tyrosinase 活性が減退するが，prolactin, intermedin お

よび ACTH の長期投与により回復する。そして prolactin のみは *in vivo* における melanin 色素形成を回復するのであるが，これは内生的なprecursorの供給増によるものと推定される。これに対し，intermedin が酵素系に与える刺戟作用は色素細胞の新生が認められるので prolactin の刺戟作用とは異なるものと思われる。すなわち prolactin では既存細胞における色素の細胞内増加に関係するものと考えられる。従つて prolactin が intermedin の作用を増強するのはその色素 precursor に対する作用に関係するらしい。また ACTH は dopa tyrosinase と a non-tyrosinase oxidative enzyme system の両者を刺戟するらしいと。（石原）

0°C 貯蔵中の無菌 lingcod 肉の燐化合物　N. Tomlinson, V. M. Creelman and K. G. Reid: *J. Fish. Res. Bd. Canada*. **17** (3), 371～376 (1960).　魚の死後，細菌が存在しない状態における魚肉中燐化合物の変化を推察するために，活きている lingcod の頭部を強打して殺し，脊びれの側面より肉を無菌的に採り，殺菌試験管に容れ，0°C の冷蔵庫に放置して貯蔵中の酸可溶性燐（全燐，無機燐，分解し易い燐），phospholipid, RNA, DNA, phosphoprotein を測定した。その結果によると，燐可溶性燐化合物のみ変化が認められ，無機燐は初期には全燐に対して 75 % であつたが，貯蔵 3 週間後には 94～98 % に増加し，この期間において有機燐化合物が分解されることが推定できた。しかし 3 週間氷蔵した lingcod（表面は腐敗臭）肉と無菌的貯蔵肉との間には上記各成分において著しい相違はなかつた。lingcod 肉の水抽出液は多の有機燐酸化合物より無機燐を分離する酵素作用を示し，この酵素作用は $MgSO_4$, $ZnSO_4$, $MnSO_4$ の添加によつて有機燐化合物の分解の程度が異なるので，抽出液中には数種の酵素が含まれていると考えられる。

（尾藤）

Bacillus megaterium 胞子から dipicolinic acid の遊離　L. J. Rode and J. W. Foster: *J. Bact.*, **79** (5), 650～656 (1960).　dipicolinic acid (DPA) は胞子の耐熱性，屈折性を規制している重要な構成物質であつて，発芽中に胞子から遊離することが知られている。このような正常な遊離以外に，種々な方法で DPA の胞子からの遊離条件を追究した。まず機械的に胞子を破潰することにより，その大部分を遊離させることができる。また加熱による影響をみたところ，100°C 15 分の加熱で完全に胞子中の DPA を抽出することに成功した。75°C では 100°C の場合の 5 % 以下，90°C では 11 % 抽出されるにすぎない。高温においては DPA の遊離より胞子の死滅速度の方が早く，胞子の死滅により DPA が遊離することを示唆している。DPA の全部を失なつた加熱胞子でも，その屈折性，非染色性は失われない。凍結融解を繰返しても DPA は遊離しない。また X 線や紫外線と DPA の遊離との間には直接の関係はなさそうである。DPA を遊離させる溶剤としては 80 % エタノール，80 % メタノール，80 % アセトンが効果的であつた。また 5 %フェノール，5 %過酸化水素，表面活性剤の一種 arquad T (0.5%) などで処理しても DPA は遊離する。（横関）

生体内におけるビタミン A の異性化　T. K. Murray, D. W. Stainer and J. A. Campbell: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 1469 (1959).
ビタミン A 欠乏の若いネズミを 2 群に分け，一方には全トランスビタミン A アルコール（ビタミン A と記す），他にはネオビタミン A アルコール（ネオ A と記す）を経口投与し，ある時間ごとにその 5 匹づつを殺し，内臓諸器官中のビタミン A の分布およびネオ A の全ビタミン A 含量に対する割合を調べ，また，経口，皮下投与後の肝臓，腎臓中のビタミン A，ネオ A の変化を調べた。更にビタミン A，ネオ A の経口投与量を変えたときの肝臓中のこれらの物質の含量を分析した。

以上の実験から何れを経口投与した場合も胃のなかで胃性化が起り，その混合物ができるが，ネオ A の割合はビタミン A 投与の場合 18～35 %，ネオ A 投与の場合 26～45 % であり，腸はこの混合物を吸収する，しかしあまり効果的ではない。肝臓のビタミン A 貯蔵量はネオ A 投与の場合はビタミン A 投与の場合より少ない。また吸収速度もネオ A 投与の場合の方が遅い。肝臓中のネオ A の割合は初めは腸内の割合と似ているが，数時間後には低下している。これは肝臓中で異性化が起ることを示している。肝臓中の異性化はネオ A の初めの割合が高いか低いかにより減少速度に明らかな差違がないからネオ A からビタミン A への変化は効果的に行なわれるようである。腎臓はこの異性化を容易に行なわない。ネオ A を大量経口投与したときは肝臓中のネオ A の割合は高い。これは腸が投与量に関係なく，両異性体を同じ割合で吸収するが，肝臓で異性化されるべきネオ A の量が多いためネオ A の異性化には時間がかかるためだろう。

結局これらのことは異性化の主な場所は胃および肝臓であり，シス異性体は腸によつて吸収されると同時に，それが生体内で利用される前に肝臓中で全トランス型に変化することを示している。シス異性体の生理活性が全トランスより低いのは腸の吸収能率によるためと，この他あるいは異性化能率が影響しているためと考えられる。（金光）

雑　　　録

○ 評 議 員 会

期　日　10 月 5 日　12 時

場　所　東北大学農学部会議室

出席者　会長以下 29 名

　　議長　松 平 康 雄

議　題

1. 文部省研究成果刊行費補助金交付額が 21 万円と決定されたので，これを報告し，予算を修正することが認められた。
2. 庶務理事増員（会誌 7 号）による会則変更について承認を得，会則第 11 条　1 役員の項のうち庶務理事 4 を 5 と改正した。
3. 海洋学特別委員会栗田，熊凝委員より改組の経過，印度洋国際観測および海洋総合研究所設立運動等について報告があつた。
4. 農学運営委員会新崎委員より報告があつた。
5. 業界研究連絡準備委員会小野委員より経過報告があつた。
6. 理事会構成員に関する件（会誌 9 号）について大島編集長より報告があつた。

○昭和 35 年　日本水産学会中国四国支部大会

日　時　　昭和 35 年 10 月 22 日午前 10 時より研究発表，終了後支部総会開催

場　所　　広島市宇品町 1328　内海区水産研究所会議室

1. 底魚餌料としての海産端脚類	永 田 樹 三
2. 種間関係について	高 橋 善 弥
3. 底曳漁船の操業規模による魚類漁獲物の体長組成の相違	千 国 史 郎
4. 瀬戸内海のサワラ流網，タイローラー吾智網漁業について	林　知 夫
5. カタクチイワシの生態学的研究―カタクチイワシの卵および稚魚の分布	°国行一正・高森茂樹
6. イカナゴの生態的研究―イカナゴ稚魚の移動と海況について	井　上　明
7. 統計から見た内海漁業資源の動向	花　岡　資
8. カキ場における懸濁質係数の分布について	野 上 和 彦
9. カキ場における小型懸濁物について	久　岡　実
10. 濁度の相異によるカキ排泄物量について	小 林 歌 男
11. カキの成長と附着生物について	岡　本　亮
12. 海産養殖用種苗に関する研究―II. 瀬戸内海中央部におけるトラフグの栄卵数について	日下部台次郎・村上　豊・°遠部　卓
13. Lumbriconereis impatieus Claparada の分布について	北 森 良 之 介
14. 水産物の風味におよぼす工場廃水の影響について	鈴 木 正 也
15. 急性毒による魚の影響に関する研究	村 上 彰 男
16. 網膜活動電位を指標として測定した魚類の弁別能力	小　林　博
17. 魚眼用検眼鏡とそれによる眼底カラー写真について	村 地 四 郎
18. 魚胃液蛋白分解酵素について	藤井　実・富田輝雄

新着外国文献案内

(1960. 9.20—10.31)

PERIODICALS

Bamidgeh (Bulletin of the Culture in Israel), Vol. 12, No. 2, 1960.

Bioloski Glasnik, Societas Scientarium Croatica, Zagreb, Jugoslavija, Vol. 13, No. 1, 1960,

Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology, London, Vol. 5, No. 10, 1960. Vol. 6, Nos. 2, 3, 4, 5, 6, 1960,

Chesapeake Science, The State of Maryland, U.S.A., Vol. 1, No. 1, 1960.

Commercial Fisheries Review, U. S. Fish. and Wildlife Service, Washington, Vol. 22, No. 7, 1960,

Fishery Leaflet, U. S. Fish. and Wildlife Service, Washington, 254 revised 1960, 432 revised 1960.

Il Gioanale della Pesca, Rome• Anno X, No. 12, 13, 14, 15-16, 1960.

Jaarcijfers visserij 1950, Verslagen en Mededelingen van de Visserij, The Hague, No. 51, 1960.

Journal of the marine Biological Association of the United Kingdom, Plymouth, Vol. 39, No. 2, 1960.

Marine Research Series, Department of Agriculture and Fisheries for Scotland, Edinburgh, No. 2, 1960 (Seals and Scottish Fisheries)

Pacific Science, Honolulu, Vol. 14, No. 3, 1960.

Publications from the Biological Station, Espegrend (Universitetet i Bergen), No. 29, 1960 (Observations on the fauna of the north Brattholmen stone-coral reef near Bergen)

Rit Fiskideildar, Reykjavik, Iceland, Vol. 2, No. 7 1960 (The fry of Sebastes in icelandic waters and adjacent seas), No. 8 1960 (Temperature at 10 meters in Icelandic waters in May–June 1950–1960),

Scientific Publication, British Freshwater Biological Association, Ambleside, England, No. 13, 1960 (A key to the British fresh and brackish-water Gastropods), No. 18, 1960 (A key to the British Freshwater Cyclopid and Calanoid Copepods)

Scottish Sea Fisheries Statitical Table 1959, Department of Agriculture and Fisheries for Scotland, Edinburgh.

Senckenbergiana Biologica, Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft, Frankfurt, Bd. 41, Nr. 1–2, 1960.

The Proceedings of the Royal Dublin Society, series A, Vol. 1, No. 4, 1960.

Tidsskrift for Hermetikindustri (Norwegian Canners Export Journal), Kristiania, Årgang 46, No. 8, 1960.

Twenty-eight Annual Report for the year ended 31 March 1960, Freshwater Biological Association, Ambleside.

U. S. Industrial Digest, International Communications, Inc , New York, Vol. 2, No. 7, 1960.

World Fisheries Abstracts, F. A. O., Rome, Vol. 2, No. 2. 1960.

World Fishing, London, July 1960.

Известия Академии Наук СССР, серия биологическая, Москва. No. 4, 1960.

Журнал Оьщей Биологии, Москва, Том XXI, No. 4, 1960.

REPRINT

Burdon-Jones, C. and McIntyre, A. D.: (1960) Stereobaianus, a genus new to the old world, Nature, Vol. 186, No. 4723, pp. 491–492.

Craig, R. E.: (1960) A note on the dependence of catches on temperature and wind in the Buchan pre-spawning herring fishery. Journal du conseil international pour l'exploration de la mer, Vol. 25, No. 2, pp. 185–190.

Hughes, R. B.: (1960) Chemical studies on the herring (Clupea harengus). III. The lower fatty acids, Journal of the Science of Food and Agriculture, No. 1, pp. 47–53.

Jason, A. C. and Sanders, H R.: Dielectric thawing of fish.

Jones, N. R.: (1960) The separation and determination of free purines, pyrimidines and nucleoside in cod muscle, The Analyst, Vol. 85, No. 1007, pp. 111–115.

Jones, N. R.: (1959) Kinetic of Phosphate-buffered, ribose-amino reactions at 40°c and 70% relative humidity: Systems related to the "browning" of dehydrated and salt cod, Journal of the Scientific of Food and Agriculture, No. 11, pp. 615–624.

Jones, R.: (1960) Mesh selection and apparent growth of haddock, Journal du conseil international pour l'exploration de la mer, Vol. 25, No. 2, pp. 177–184.

Love, R. M.: A new technique for the measurement of texture change in fish muscle, and its application in assessing the quality of cold-stored material.

Muzinic, R. and Parrish, B. B.: (1960) Some observations on the body proportions of north sea autumn spawning herring, Journal du conseil international pour l'exploration de la mer., Vol. 25, No. 2, pp. 191–203.

Parrish, B. B., Baxter, I. G., and Mowat, M.J. D.: (1960) An automatic fish egg counter, Nature, Vol. 185, No. 4715, pp. 777.

Pearson, S. F.: Economical methods of maintaining low temperature and high humidity in cold cod stores.

Steel, J. H. and Yentsch, C. S.: (1960) The vertical distribution of chlorophyll, Journal of the marine Biological Association of the United Kingdom, Vol. 39, No. 2, pp. 217–226.

SEPARATE VOLUMES

U. S. Navy Hydrographic Office:

Report of the ice observing and forecasting program

1954,	published 1955	(Technical Report.	49),
1955,	1956 (	〃	50)
1956,	1957 (	〃	51)
1957,	1958 (	〃	52)
1958,	1959 (	〃	66)

Operation deep freeze II 1956–1957, oceanographic survey results, (Technical Report 29) 1957.

U. S. Navy Hydrographic Office Report on Operation Deep Freeze I (Technical Report 33) 1956.

Field report oceanographic observations U. S. Navy antarctic expedition, 1954–1955, (Technical Report 48) 1956.

Oceanographic observations arctic waters, task force five and six, summer-autumn 1957, (Technical Report 59), 1957.

Charts and publications for antarctica operations 1959–60, (H. O. Special Publication 21), 1959.

Application of wave forecasts to marine navigation (Special Publication 1) 1957.

Tables for rapid computation of density and electrical conductivity of sea water (Special Publication 11) 1956.

References on physical oceanography of the western pacific ocean (H. O. Pub. No. 238) 1953.

Wind, sea, and swell; Theory of relations for forecasting (H. O. Pub. No. 601) 1947.

World atlas of sea surface temperatures, second edition-1944 (H. O. No. 225) 1948.

Oceanographic atlas of the polar seas (H. O. Pub. No. 705) Part I, 1957, Part II, 1958.

Atlas of sea and swell charts northeastern pacific ocean (H. O. Pub. No. 799D) 1950.

Atlas of sea and swell charts indian ocean (H. O. Pub. No. 799G) 1948.

Atlas of sea and swell charts northwestern pacific ocean, southwestern pacific ocean (H. O. Pub. No 799 C–E) 1950.

Atlas of surface currents indian ocean (H. O. Pub. No. 566) 1958.

Atlas of surface currents northeastern pacific ocean (H. O. Pub. No. 570) 1947.

Atlas of surface currents northwestern pacific ocean (H. O. Pub. No. 569) 1953.

Current charts, southwestern pacific ocean (H. O. Pub. 568) 1944.

海水汚濁の測定について—II.
汚濁指標としてB.O.I.を用いた水質調査

諸 岡 等

(1960年7月28日受理)

DETERMINATION OF SEA WATER POLLUTION—II. SURVEY ON THE WATER QUALITY WITH B.O.I. AS A POLLUTION INDICATOR.

Hitoshi Morooka*

This study was conducted to clarify the significance of a new indicator (B.O.I.-Biological Oxygen Index), which had been assumed as an indicator of sea water pollution caused by microorganisms, and the following results were obtained.

1) Many fishes of N Aquarium died last summer. Although no abnormality was found by chemical analysis, the value of B. O. I. revealed that there were so many microorganisms. It is easily conceivable that microorganisms can not proliferate in the culture water, from the fact that the value of B. O. D. or C. O. D. of the culture water is small. The microorganisms which play an important part of the origin of the B. O. I., grow on the body of some fishes and make them die, and then spread to some other fishes through the culture water.

2) As the results of a survey on the quality of the waste water from starch factories, that might badly effect fishes, the author reached the following conclusion.

a) In the areas where waste water flows in and tidal currents wash, the value of C.O.D. or B.O.I. indicates somewhat wider polluted areas than the value of pH or B. O. D. does. But the area is not so spread. In such a case, organic substances are decomposed but microorganisms are left alive.

b) In the areas where waste water flows in but tidal currents do not effect, pH, D. O. and B. O. I. reveal nearly same results in extent of spreading, and the area is so spread. In such a circumstance, waste water that spreads and pollutes sea water, seems not to be usually diluted and the organic matter decomposed in the same area.

この報告は筆者が前報[1]において微生物による海水の汚濁を示す指標として検討した B.O.I. (Biological Oxygen Index—海水に 1000 p. p. m. 相当の葡萄糖を添加して 30°C で 24 時間培養した時の酸素消費量)の測定を，汚濁された海水の実地調査に用いて有効であることを示すものである。

1. 水族館における魚族の異状斃死と水質調査

N水族館は昭和 34 年4月に開館された。ここでは飼育用の海水は循環使用されている。観覧水槽を出た水はシャワーとなつて曝気され砂沪しによつて沪過され再び観覧水槽に戻る。開館当初は順調に魚族の飼育がなされていたが，7月頃になつて魚族が異常斃死を始めたので，その原因を調べることになつた。

ここで，予め考えられる斃死の諸要因のうち，物理的原因については，これはむしろ開館当初に起ることであろうと思われたので吟味する必要なしとした。ここにおいて，まず飼育中の魚族の排泄物あるいは分泌物が原因ではないかと検討した。よつて飼育海水中の窒素化合物の分析から調査を行なつた。その結果を

* 長崎県水産試験場 (Nagasaki Pref. Fish. Exp. Station).

Tablel 1 に示す。(昭和 34 年 7 月 1 日)

Table 1. Contents of Nitrogen Compound in Water of Aquarium. (γ/l)

Sample Water	Nitrate-N	Nitrite-N	Ammonia-N
1. Natural Sea Water	0	0	32
2. Circulating Culture Water before Filtration through Sand Filter	2900	42	41
3. Circulating Culture Water after Filtration through Sand Filter	2600	42	59
4. Culture Water in Oceanarium	2600	42	43
5. Circulating Culture Water before use in Show-Aquarium.	3600	42	41
6. Circulating Culture Water after use in Show-Aquarium.	4200	49	32
7. Water of the fresh Water Aquarium, culturing Carp.	1700	14	32
8. Inlet Water of the fresh Water Pool, out Door.	400	28	28

表中 NO_2-N は NH_3-N が酸化され，NO_3-N は NO_2-N が更に酸化されて生じたものと考えられるが，NO_3-N 量は天然海水中のそれに比べて著しく多い。しかし他の水族館[2] にはこの約 10 倍量の NO_3-N を含む例もあり問題になるとは思われない。また NO_2-N については含量も少ないし，前述のごとき水族館にはこれの約10倍を含む例もあつて障害が認められていないのであるから特に問題になるとは思われない。NH_3-N については 0.3 p.p.m.[2] 程度で血液の呼吸作用に障害を与えるといわれているが，分析の結果はその1/5以下であり，他の水族館の飼育水中の含量に比べてもその 1/2 以下であつて，特に斃死の原因になるとは考えられない。

供試海水のN化合物については，このように特に有害あるいは有毒であることを示す結果は得られなかつたので，7月3日水族館に赴き現場でN化合物以外の事項について調査した。その結果を Table 2 に示す。この表の値からは水温は高いが，pH，溶存酸素，化学的酸素要求量等については異常を認めない。(この季節の飼育水の温度として，異常に高いとは思われぬ。)

Table 2. Results of Analyses Made at Aquarium.

Sample Water	Temperature (°C)	Chlorinity (‰)	pH	D.O. (p.p.m.)	C.O.D. (p.p.m.)
1. Inlet Water for Sea Water Aquarium.	26.2	18.65	8.4	6.26	1.40
2. Circulating Culture Water before Filtration.	26.2	17.59	8.16	6.08	0.99
3. Circulating Culture Water after Filtration.	26.2	17.73	8.06	6.45	1.08

化学分析によつては以上のように特に異常を認めることができないので，水質が水槽中で均一でなく，特に悪い水塊が水槽中に残つているのではないかと考えて，最も被害の大きい 60 トン容量のオセアナリウム(立体水槽)について，水槽の構造上混合されない水塊の残ると思われる場所を選んで，改めて精細な調査を行なつた。その採水点を Fig. 1 に示す。採水試料について分析した結果を Table 3 に示す。この結果からオセアナリウム中に魚族にとつて有害な水塊が残つているとは思わない。この種の調査を数回繰り返したが，結果はすべて同様であり，化学的水質検査では死因究明が不可能であつた。

つぎに斃死率の高い水槽の魚族は，魚体の全面が白く侵されているもの，鱗が剝がれ出血あるいは菌叢の生じたもの，鰓が侵され出血あるいは菌叢の見られるもの，眼球が侵され白濁あるいは菌叢が認められるも

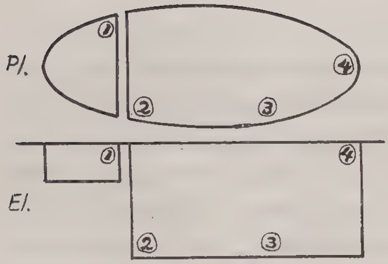


Fig. 1. Sampling Points in Oceanarium.

Table 3. Charactors of Water Mass of Oceanarium. c. f. Fig. 1.

Sample	Temperature (°C)	pH	D.O. (p.p.m.)	C.O.D. (p.p.m.)
1	26.4	8.0	6.60	0.98
2	26.2	8.0	6.43	0.74
3	26.2	8.0	6.38	0.78
4	26.2	8.0	6.39	0.93

の等がある。これはおそらく魚体のそれぞれの場所に繁殖した微生物が飼育水を媒体として他の魚体に伝染し，これがまた原因となつて他に伝染したためと考えられる。従つて魚族の被害程度が高ければ高い程飼育水には被害魚から移行した微生物の多いことが予想された。

Tables 2, 3 の分析結果から明らかなように，飼育水の B.O.D. (Biological Oxygen Demand) や C.O.D. (Chemical Oxygen Demand) は小さく，N 化合物含量は大きい。しかし飼育水はそのままでは微生物の培養基としては不完全であり，その中では微生物の繁殖は圧えられているが，これに培養基の栄養源として最も欠けている炭素源として炭水化物を添加すればたちまちよい培養基となるはずである。よつて飼育水に葡萄糖を加えて微生物の培養基を作り，存在する微生物を活動させ，その活動状況を酸素の消費割合によつて知ることにした。すなわち B.O.I. の測定を加えて総合的な水質調査を行なつた。調査結果は Table 4 に示す示す通りである。

Table 4. Charactors of Culture Water of Aquarium.

Sample Water	Inlet Water for Sea Water Aquarium	Circulating Culture Water
Water Temperature °C	26.4	26.2
Chlorinity	17.88	17.85
pH	8.20	8.16
D. O. (p.p.m.)	6.26	6.08
Nitrate-N (γ/l)	—	2600
Nitrite-N (γ/l)	—	42
Ammonia-N (γ/l)	32	43
C. O. D.	1.74	1.25
B. O. D.	0.48	0.06
B. O. I.	3.60	6.90

調査は海水取入口（原水）とオセアナリウム（循環水）で採水したものについて行なつた。物理ならびに化学的要因については前記の場合と同様すべて正常であり，特に注意をひくような異常な値は認められない。すなわち，水温，pH，溶存酸素等については両者に差はないが，窒素化合物だけは循環水に特に多かつた。しかし窒素化合物が多いことは水族館の飼育海水の特徴であつて問題にならない。C.O.D. や B.O.D. は循環水に少くこれは循環中に好気性細菌によつて酸化された結果であろう。B.O.I. は両者とも比較的大きく，特に循環水の 6.90 は大きな値であつて，長崎港の汚濁した場所の値にも匹敵する。取入口の原水の B.O.I. も比較的大きい値である。このように汚れた水を取入れたことも水質汚濁の原因であろう。現在では補充用の飼育海水は沖合の方で汲まれ，その B.O.I. は 0.60 (昭和 35 年 2 月 28 日) であり，微生物的に浄水の部に属する。

この調査により飼育水の水質は化学的には異状を認め得ず，生物学的に調査を行なつて始めて異常を認め得ること，すなわち微生物の発生が多く，そのための障害を考慮すべきことが明らかにされた。また実際には斃死魚族からかなり多数の白点病の原因となる原虫類の存在が認められている。

2. 澱粉工場廃水による水質汚濁の調査

澱粉工場廃水は腐敗し易いために各種の問題を起すものである。以下はその調査に B.O.I. 測定を加えて汚濁の概要を明らかにした例証である。

A．廃水が潮流の影響を受ける場合

長崎県S町にある澱粉工場の例である。本調査は工場の作業が終りに近づいた時（昭和34年12月8日）行なつた。その調査結果を Table 5 に示す。なお工場は河口（灌漑用水路で水量が少い）より約 10m 上流に排水口を持ち，廃水が海面に出た後は干満の際の潮流によつて稀釈されている。採水点 1，2，3，4 はそれぞれ河口から沖に 20，60，100，150m 離れている。分析結果をみると汚濁を示す数値は何れも沖の方に向かつて汚濁度が減少することを示している。しかし沖の正常な海水を基準にとり精細に検討すると，pH や沃素消費量よりも B.O.D. が汚濁に対して敏感であり，さらに B.O.D. よりも C.O.D. や B.O.I. が汚濁を敏感に示している。C.O.D. と B.O.I. を比較すると，C.O.D. の測定は容易であるが，汚濁度の解明という点から考えると B.O.I. の測定は遙かに論理的なものがある。何れにしろこの場合は pH や沃素消費量よりも B.O.D. が広い範囲の汚濁を示し，C.O.D. や B.O.I. の方が更に広い範囲の汚濁を示すことが明らかになつた。

Table 5. Charactor of Sea Water Polluted by Waste Water from Starch Factory*.

Sampling Station	1		2		3		4	
Distance from the point of Inflow (m)	20		60		100		150	
Depth (m)	1.50		2.30		4.20		5.50	
Transparency (m)	1.20		2.30		4.00		3.80	
Classification of the Bottom type	Gravel		Gravel		Gravel+Sand		Gravel+Sand	
Sampling Layer	Surface	Bottom	Surface	Bottom	Surface	Bottom	Surface	Bottom
Water Temperature (°C)	15.6	15.6	15.7	15.6	15.7	15.5	15.8	15.6
Chlorinity (‰)	18.30	18.35	18.29	18.35	18.38	18.38	18.40	18.39
pH	7.95	7.95	8.05	8.10	8.05	8.10	8.10	8.10
D. O. (p.p.m.)	7.34	7.52	7.58	7.67	7.69	7.62	7.70	7.69
H_2S by I_2 Method (mg/l)	0.231	0.126	0.096	0.017	0.070	0.025	0.025	0.026
B. O. D.	8.08	3.81	8.74	0.84	0.25	0.24	0.42	0.45
C. O. D.	33.4	9.2	19.0	1.46	1.95	0.74	0.77	0.74
B. O. I.	7.50	5.99	8.21	1.95	0.74	1.36	1.00	0.84

* Waste water from the starch factory usually spread over some extent because of the sea current. Therefore, bad effects caused by the waste water are minimized in this area.

B．廃水が潮流の影響を受けない場合

O市地先の海面が約 10 カ所の澱粉工場の影響を受けて，多数の魚族が斃死したことがある（昭和 34 年 11 月 18 日）。この附近はO湾の湾奥部にあたり，地形上潮流の影響の少い処で，かかる危険は予め考えられていたが，従来は澱粉工場の操業期は風の強い日が多く，廃水は稀釈されるので障害は少なかつた。しかしながら問題が起きた当時は約 10 日間はとんど無風に近い静かな日が続いていた時であり，海面が攪拌されず，従つて廃水が稀釈されていなかつた。その結果，一面に廃水が停滞して腐敗醱酵をし，広範囲に亘つて被害を生ずるに至つた。その調査結果をまとめると Table 6 の通りである。試水の採取は廃水溝が海に出る地点より沖へ Table 5 に示した地点で行なつた。調査の結果から判断すると全般的には海面上層を廃水が覆つた形に拡がつている。しかもその廃水は腐敗し分解し易いので，pH や酸素含量の測定だけでも明白な被害範囲が判り，B.O.D. や B.O.I. の結果をまつまでもない。B.O.D. は酸素消耗が起こる場合に予知的な作用をするものと考えられるが，今次の場合は酸素欠乏による障害の方が B.O.D. により予想される障害よりも顕著に現われている。これは恐らく酸素欠乏の原因となる有機物が比較的短期間に分解されていたのであろう。B.O.I. は前報にも述べたように B.O.D. による問題が解決したと思われる後に残つていて汚濁の原因となるものであり，その示す汚濁範囲は B.O.D. によつて知り得る範囲よりも広い。本調査

Table 6. Charactors of Sea Water Polluted by Waste Water from Starch Factory.*

Sampling Station	1	2		3		4		5	
Distance from the point of Inflow (m)	80	200		300		400		800	
Depth (m)	0.5	4.0		4.5		4.6		6.7	
Transparency (m)	0.5	2.0		2.0		4.0		5.7	
Sampling Layer	Surface	Surface	Bottom	Surface	Bottom	Surface	Bottom	Surface	Bottom
Water Temperature (°C)	17.4	17.4	—	17.8	18.1	18.3	—	18.4	18.4
Chlorinity (‰)	—	18.02	18.17	18.04	18.24	18.24	18.27	18.28	18.28
pH	6.4	7.5	7.2	6.9	7.5	6.9	8.0	8.1	8.1
D. O. (p.p.m.)	0	0.10	0.08	0	2.48	6.78	6.30	8.42	8.48
H_2S by I_2 Method (mg/l)	11.62	0.474	0.156	2.128	0.018	0.08	0	0.017	0.034
B. O. D.	—	4.53	0.74	—	1.71	—	—	0.48	—
C. O. D.	328.3	17.7	2.3	18.7	2.01	1.13	1.23	0.94	0.98
B. O. I.	—	6.25	3.88	—	2.46	—	—	1.79	—

* Waste water from the starch factory does not spread and it is decomposed in this area because of motionlessness of the sea. So, bad effects take place.

において B.O.I. により知り得た汚濁範囲は酸素含量が示す汚濁範囲と大体同程度である。これらの事実は澱粉工場廃水が同一箇所に停滞して稀釈されずに分解したことを示すものである。

摘　　要

前報で概念的に確立した海水の汚濁度を微生物の働きによつて判定する新しい指標 (B.O.I.) が，海水汚濁の調査に適用して有効であることを次の諸例によつて確認した。

1) N水族館で飼育中の魚族が多数斃死したことがある。その原因は化学的水質調査だけでは明らかにされず，B.O.I. を用いて始めて解明のいとぐちが得られた。すなわち飼育水には微生物が多く，ために魚体は微生物に侵されていたのである。

飼育水の B.O.D. や C.O.D. は小さく，そこでは微生物の繁殖することが困難である。従つて B.O.I. を示す原因となつた微生物は，魚体で繁殖したものであり，その斃死原因ともなり，飼育水を媒体として他の魚に伝わつたものであろう。

2) 澱粉工場廃水による水質汚濁の状況の調査が，従来の化学的方法に B.O.I. 測定を加えただけで，その様相を一層明確なものとした。

a) 廃水が海に出て直ぐに潮流によつて攪拌稀釈される場合，その汚濁範囲は狭いものであるが，pH や B.O.D. によるよりも C.O.D. や B.O.I. による検索が若干広範囲の汚濁を示す。この場合は有機物が分解したあとに微生物が残つていることが認められる。

b) 廃水が注ぐ海面が静かである場合は，pH，溶存酸素，B.O.I. 等で検知される汚濁範囲はほとんど同程度であり，海面はかなり広範囲に亘つて汚濁している。これは廃水が稀釈されることなく，流出したままで停滞し，その場所で分解し種々不都合な原因になつていると推定した。

文　　献

1) 諸岡　等:　日水誌，**26**，663 (1960).
2) 佐伯有常:　日水誌，**23**，684 (1958).

北西部太平洋におけるビンナガ鮪漁場動態に関する研究—III.*

本邦東方海域の海況変動が夏ビンナガ漁場と漁況におよぼす影響

井 上 元 男

(1960 年 9 月 12 日受理)

STUDIES OF MOVEMENTS OF ALBACORE FISHING GROUNDS IN THE NORTH WEST PACIFIC OCEAN—III. INFLUENCE OF FLUCTUATIONS OF THE OCEANOGRAPHICAL CONDITIONS UPON THE FISHING GROUNDS OF ALBACORE IN THE SUMMER PERIOD AND ITS FISHERY CONDITIONS IN THE EASTERN WATERS OFF JAPAN.

Motoo Inoue**

The purpose of this study is to clearly explain the variety of the main fishing grounds and fishery condition of albacore during the summer period under the influence of the changes of oceanographical conditions, these oceanographical changes can be observed by watching the shifting of albacore fishing grounds during the winter-spring period in the eastern waters off the mainland of Japan (Lat. 30∼40°N, Long. 140∼160°E) from 1951 to 1959.

The principal data, which have been obtained from the analysis of yearly fluctuations of isotherms of sea surface, are as follows:

1) Oceanographic conditions can be classified into four patterns of HL, HLHLH, LHL and LHLHLH type, by the high and low sequence of surface temperature in the eastern water off Japan (Figs. 1∼4).

2) It is found that the migration of albacore during the winter period is controlled largely by the water zone under 16.3°C which can be regarded as "environmental resistance" and water zone between 16.3∼22.8°C extends from south to north in the area north of Lat. 35°N are regarded as "environmental induction"***, which induces the fall albacore shoals.

3) It seems reasonable to assume that the main fishing ground of summer albacore moves to the west or east and principally bring about variations of the fishery conditions (Table 1) above-mentioned.

4) As one of the most important conditions which produces favorable summer albacore fishery condition, it can be said that the formation of two or three winter albacore gathering place moves to the south west in adjacent waters of Japan.

5) As one of the most important conditions which get a bad catched fish in summer albacore fishery conditions, it can be said that the formation of the winter albacore gathering place moves eastward waters off Japan, or that density gathering place does not extend from the most adjacent sea to the eastern waters off Japan, and then by those shoals dispersing and moving southward from there, therefore the summer albacore gathering place disperses and its grounds become like those are found in the eastern waters off Japan.

* 本報告は 1960 年 4 月，日本水産学会大会に発表したものに加筆したものである。
** 東海大学水産研究所 (Fish. Lab., Tōkai Univ.).
*** Adopt a general idea of the induction in contrast with its resistance by to view environment like the field in the science electricity.

従来，本邦東沖の夏ビンナガの海況と漁況に関する研究は宇田[1-3]，木村[4]，川合[5),6]，川崎[7-10] により行なわれ，主として夏ビンナガ漁場成立時の海況条件を等温線，等塩素量線等の資料より，物理，化学的環境として把握している。しかし，夏ビンナガ漁場海域とほぼ同一海域で漁獲される冬ビンナガと夏ビンナガを関連させて見る研究は少ない。この点に関して宇田[2] はビンナガ漁場の移動は1年を通じて眺めると，大体，黒潮とともに北東上し，黒潮反流によつて南西方向に復帰する時計廻りの洄游をなしているものと見られると述べ，また，本州南海黒潮流域における海況変動と漁況の関係を重視している。須田[11]は北上するビンナガのかなりの部分は南下ビンナガが引き続いたと考えるのが妥当であろうと述べ，川崎[8] は野島崎南東海域の春ビンナガ，夏ビンナガの中層水塊の塩素量，水温を調べ，イソプレットより，春の釣りビンナガ漁は中層水の低温低塩から高温高塩に移る時季に始まり，表層が高温低塩になり始める時季に終ると述べている。

著者[12),13]はビンナガの水温に対する“すみわけ”現象より，冬ビンナガは大型魚先行，小型魚後行の南下洄游を，春季には小型魚先行，大型魚後行の北上洄游をすることを述べ，また，本邦南方海域の夏ビンナガ漁場の西偏，東偏の因が，冬季，遠州灘沖合に出現する冷水塊が環境抵抗 (environmental resistance) として冬ビンナガが魚群の洄游を支配することに関連するものであることを明らかにした。また，海況と魚群の生態をからみ合せ夏，冬ビンナガの漁場予報[14]を毎旬発行してきた。しかし，本邦，東沖の夏ビンナガ漁場については，夏ビンナガ漁期以前の冬季，春季の海況変動および冬から春のビンナガの洄游といかなる関連と機構のもとに形成されるものか，まだ明らかではない。

近年，4～7月の竿釣り夏ビンナガ漁が漁場形成の面ないしは漁獲高の上にも大きな変動をしている。とくに主漁場位置が近海に形成されたり，沖合に形成されたりして東西に大きく変動している (Table 1)。

Table 1. The location of main albacore fishing grounds and albacore catches in the summer period (April ～July).

Year	The central location of main fishing grounds*			Catches (all Japan)**	
1952	360,	540		39,800	Unit of catch: tons
1953	240,	480		28,400	
1954	180,	720,	880	25,490	
1955	180,	600		23,600	
1956	240,	600,	900	44,500	
1957	280,	540		51,020	
1958	300,	720		24,742	
1959	300,	900		15,299	

* About the direct distance to the main fishing grounds from NOZIMAZAKI in Japan. unit: miles
** Survey by Fisheries Agency, Ministry of Agriculture and Forestry.

本研究はこの夏ビンナガ漁場形成位置の東西変動および漁獲の豊凶が単に夏季魚群の生態，環境のみに起因するものではなく，さかのぼつて，冬季の海況変動と，それに伴う魚群の洄游径路の変動に起因するものであるということを動的に明らかにしようとしたものである。

資料は 1951 年から 1959 年に至る清水，焼津に水揚げされた漁船の漁況報告，気象庁発表の全国海況旬報を使用した。

ビンナガの主体的環境としての環境抵抗，環境誘導

夏ビンナガ魚群の主要構成は須田[11]の体長組成の研究および著者の研究から[12-16]，その大多数が本邦近海を南下した冬ビンナガが4月頃より表層に浮上し，北上もしくは東に移動することによつて構成されることは明らかである。したがつて夏ビンナガの主要漁場，すなわち，夏ビンナガの溜り場が東西に変化し，またその漁獲が大きく変化するのは，冬ビンナガの南下する径路の変化に基くのではないかと一応考えられる。著者はⅠ報，Ⅱ報において，冬ビンナガは適温洄游の性格が強く，また，冬季，130～180°E, 25～40°N 間の 16.3°C 以下の水帯は冬ビンナガの洄游径路を阻止し，迂回させる“環境抵抗”(environmental resistance) として働らくことを述べた。すなわち，冬ビンナガは 16.3°C 以下の環境抵抗を忌避して南下しながら生活に適する水温帯を求めて移動する。そして，冬季，春季には北方に張り出す 16.3～22.8°C 級の黒潮系の暖流突出部に集まるようになる。そして，その中心軸沿いに濃群をなして大型魚先行，小型魚後行の

順序で南下する性質が強い[12),14–16)]。したがつて，そのような水帯を南下移動するビンナガは，その好む水温，餌料，その他生活に適する環境によつて誘導されているものと看做すこともできよう。このような環境をつくる水帯，水塊を環境誘導体，もしくは“環境誘導”(environmental induction)*と呼ぶことにする。環境誘導は 12 月中旬から翌年 3 月下旬に至る気象庁発行の海況旬報の表面等温線資料より次のようにして求められる。すなわち，毎旬，35°N 以北海域において，北方へ顕著に突出した表面水温 16〜22°C の等温線によりあらわされる水帯の中軸を重ね合せ，その重合点および映像により，冬季から春季まで（夏漁前まで）連続し，安定した北上する暖流の流路，すなわち“環境誘導”を知ることができる (Figs. 1〜4)。このように環境を単純化し，主体的環境として把握することにより，冬季の南下ビンナガは環境抵抗により北方からの南下洄游を規制され，環境誘導により夏季のビンナガ主漁場，すなわち溜り場に向つて，南方に誘導されると考えられよう。

実際，毎旬の本邦東沖合のビンナガ魚群の分布を理論的に決める際に標識放流の結果からも，海流，水塊の区分からも明確に分布限界を決められる段階に至つていない。このような時に環境を海流の区分，水塊の属性などを厳密に区分することなく，ビンナガ魚群の主体的環境により，魚群の分布，洄游の機構を解明されるならば，ビンナガの洄游路，および漁場，漁況の予報を簡易なものにすることができよう。また，物理，化学的観測資料の少ない野島崎東方海域のビンナガの洄游機構を究明するに当つて，物理，化学的要素だけにとらわれず，餌料およびビンナガの本能的な行動をも加味した多要因な生態学的環境として，環境抵抗，環境誘導という water-masses を設定する。利用できる資料の関係上，気象庁発行の毎旬の海況旬報[18] の表面等温線は最も広範囲に調査され，定常的に発刊される点，非常に有利である。

表面等温線の配置より見た本邦東方海域の海況変動と漁場の動態

冬季 140〜160°E，30〜40°N 間において，表面等温線による水温配置の高低から，とくに 35°N 以北海域に着目して，冬ビンナガの南下初期（pattern として 12 月中旬を取る）の海洋型を分類すれば，1951〜1958 年の本邦東方海域の海況変動は日本近海を基点として眺め，西高東低，西低東高，あるいは，その反復の型であらわされる**。実際に起つた水温配置から各年度の海洋型は次の 4 つに分類されよう。

（1） 西高東低型 (HL 型)
（2） 西高東低東高東低東高型 (HLHLH 型，HL の反復型)
（3） 西低東高東低型 (LHL 型，LH の反復型)
（4） 西低東高東低東高東低東高 (LHLHLH 型，LH の反復の型)

これらの海洋型に 12 月中旬における環境抵抗と竿釣り漁獲による魚群の分布を入れ，更に，12 月中旬以降 3 月下旬までの表面等温線資料より一連視してなされる環境誘導と翌年 4〜7 月の夏ビンナガ漁獲分布範囲を記入したのが Figs. 1〜4 である。

海洋型と魚群の洄游径路，漁場形成について

西高東低型 (HL 型)

'53 年，'58 年がこの型に属する***。すなわち，近海暖流強勢，沖合寒流強勢で水温配置は西に高く，東に低い型になる (Fig. 1)。したがつて南西下してきたとみられる冬ビンナガの濃い溜り場は金華山沖 280—

* 環境誘導は生物の移動，ここでは魚群の洄游移動を促す環境条件を具えた海洋の水塊，あるいは水帯を誘導体として考える。また著者が I 報で述べた拡張された概念用語である環境抵抗と対比する生態学的用語として使用したい。

** 理論的にはこの他に寒暖両流が平衡して等温線がほぼ平行して東に伸びる平衡型も考えられるが，本研究では西低東高型とともに該当する年もないので，これにふれずに置く，また，分類には寒暖両流の強弱にウエイトを置く方法も考えられるが，本研究では冬ビンナガの溜り場という生態的な面も考慮し溜り場を形づくる配置に重点を置いた。分類の複雑化を避けるためにもよる。

*** '58 年型は一見，西高東低東高型のように見えるが，12 月中旬前後の等温線の配置から眺めても，150°E 以東沖合を北上する暖流勢力弱く，一応，西高東低型に入れることにした。

330 浬近海に形成され，それより沖合には形成されていない。すなわち，この型の場合，環境抵抗によつて囲まれた冬ビンナガ魚群の濃い溜り場は近海に1カ所のみしか形成されず，その魚群は近海に張り出した環境誘導に導びかれ，西偏して近海を南下洄游するようになる*。147°E 以東を南下したと想定される沖合群は環境抵抗によつて囲まれるようなこともなく，また，顕著な環境誘導もないので，おそらく東沖合を分散して南下したのであろう。したがつて，翌年 '54 年，'59 年の夏ビンナガの溜り場，すなわち，夏ビンナガの主漁場が，それぞれ，180 浬，300 浬近海に西偏して形成され，その他の海洋型の年に見られるような 500〜600 浬辺あたりには大きな漁獲を挙げる主漁場は形成されない。そして，例年ならば終漁期になる7月に入つて，ようやく沖合を南下したと思われる魚群を把握し，700〜900 浬沖合に漁場が東偏して形成する傾向を持つようである。なお，このような年は黒潮流路南側の低温域の魚群の浮上がほぼ1カ月近く遅れるようである。したがつて，漁期前半は漁場が近海に西偏し，漁期後半に東沖深くに好漁場が形成されても，全体的には不漁になるようである (漁場形成位置，漁獲の豊凶については Table 1 参照，以下同じ)。

西高東低東高東低東高型 (HLHLH 型，HL の反復型)

'51 年，'56 年がこの型に相当する (Fig. 2)。この型の特徴は環境抵抗によつて囲まれた冬ビンナガの大きな溜り場が 160°E 以西に，おおよそ3カ所，図中Hの部分に形成すると看做される**。この溜り場より環境誘導に導びかれ，南西下したと見られる魚群の合流によつて，翌年 '52 年，'57 年の夏ビンナガ漁場は主として 280〜540 浬の間に西偏し，東西に長い大漁場を形成し，大きな漁獲を挙げている。いわゆる，大漁型である。また，155°E 以東の環境抵抗，環境誘導から推して，野島崎 540 浬以東沖合を南下したと思われる魚群により，夏ビンナガ漁場が形成されなかつたのは，近海ですでに大きな漁獲を見，魚価が暴落したため，漁船がこの方面へ出漁しなかつたためによると思われる。

西低東高東低型 (LHL 型，LH の反復型)

'54 年，'55 年がこの型に相当する (Fig. 3)。沿岸沿いの寒流勢力強く，環境抵抗は巾広く本邦近海を南に張り出している。一方，沖合暖流勢力は強く，水温配置は西に低く，東に高い型をほぼ呈するようになる。したがつて，12 月中旬頃の冬ビンナガ魚群の溜り場は 150°E 以西の近海には殆んど形成されず，150〜151°E の沖合に東偏して形成される。冬ビンナガの溜り場の東偏からも環境誘導の配置からも魚群は 150°E 線を南下するか，もしくは南西下して 150°E 以西に洄游するものもあると推定される。したがつて，翌年の夏ビンナガは '56 年のように漁場が近海から沖合へ継続され，近海南下群，沖合南下群をうまく把握したと思われる年は主漁場が西偏して大きく形成され，かつ，漁獲も大漁であるが，'55 年度のように 140°E 線東西近海に漁場が固着し，近海南下群のみを把握し，150°E 線を南下したと思われる沖合南下群を見失い，沖台漁場の開拓がうまく行かなかつた年は主漁場は西偏して近海に形成されるも，東沖合漁場は僅かに点々として形成され，かつ，漁獲も不漁になるようである。

西低東高東低東高東低東高型 (LHLHLH 型，LH の反復型)

'52 年，'57 年がこの型に属するが (Fig. 4)，環境抵抗，環境誘導の配置から，冬季の魚群の溜り場は '52 年が 142〜146°E，148〜153°E，158°E に，'57 年が 143〜146°E，152°E，156°E，160°E に形成されたと看做される***。総じて，このような型の場合，冬季の魚群の溜り場は近海から沖合にかけ幾つかに別れ飛び飛びに形成されるようである。したがつて，翌年 '53 年，'58 年の夏ビンナガ漁場は 150°E 以西近海

* 特に 10 月下旬より2月中旬頃まで，そのような傾向が強く見られる。冬ビンナガについて調べた著者の漁場図参照[14-17]。

** '51 年には 150〜153°E，155〜158°E の 37°N 以北に魚群の溜り場が確認されるはずであるが，この頃は漁船の沖合出漁意欲はなく，このような北側の沖合漁場開拓はされなかつた。したがつて，図中のHところにできると考えられる魚群の溜り場は確認されていない。'56 年はこの図からは近海の溜り場は形成されていないように見るが，1月上旬以降 142°−50′E，37°−50′N に魚群の来游を見，溜り場は確認された。

*** '52 年，'57 年とも近海に漁場が形成され，35°N 以北の 150°E 以東に操業する船がなく，沖合の溜り場は確認されなかつた。

Figs. 1～4. The pattern of the fluctuation of the oceanographical conditions and the movement of albacore fishing grounds in the winter-summer period in the eastern waters off Japan, 1951～1959.

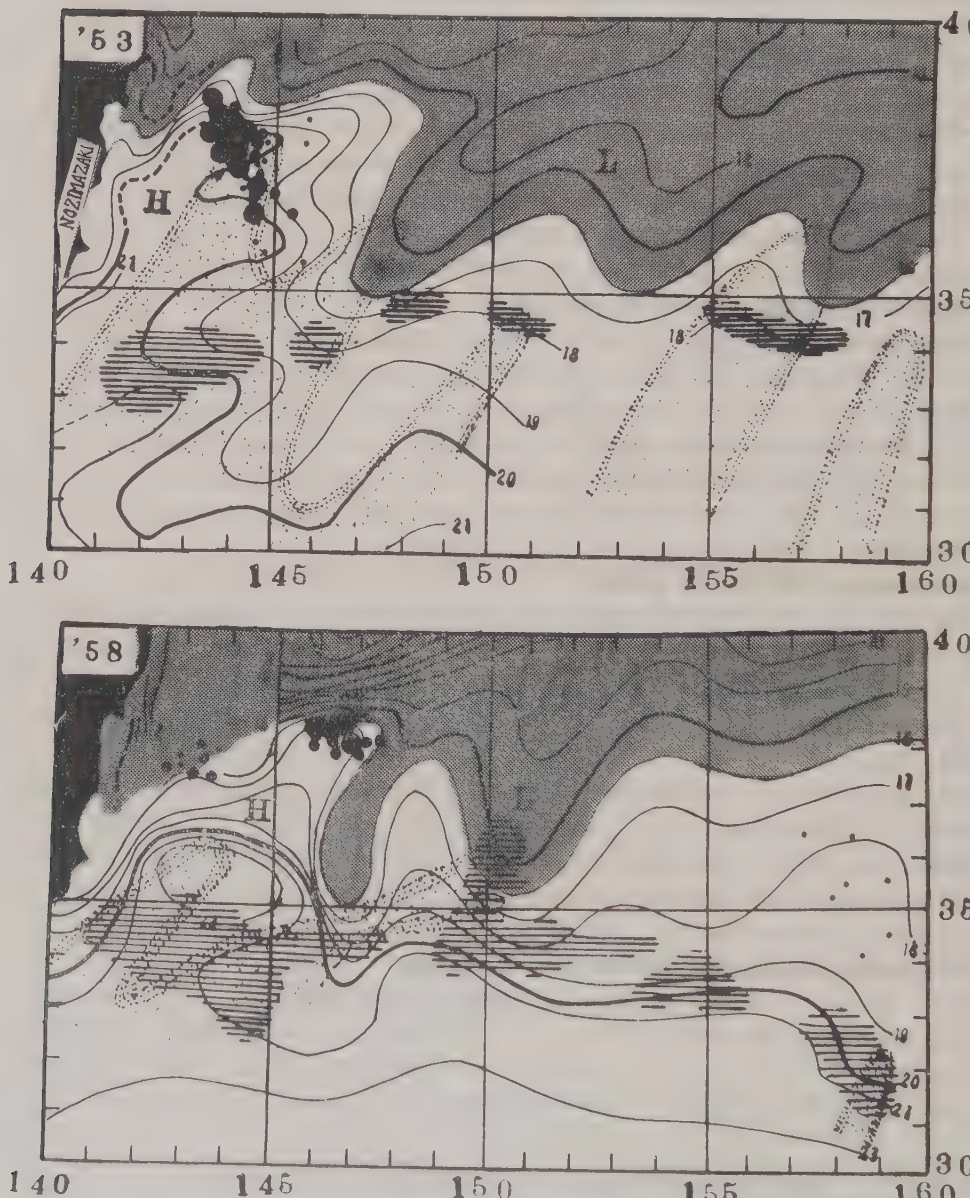


Fig. 1. HL pattern

Legend

0°— Isotherms of sea (surface) °C and albacore distribution for the second ten-days of December

• 1～100 ● 101～1,000 ● 1,001～10,000

Albacore catch total

Albacore fishing grounds, April-July (next years)

Environmental induction

Environmental resistance

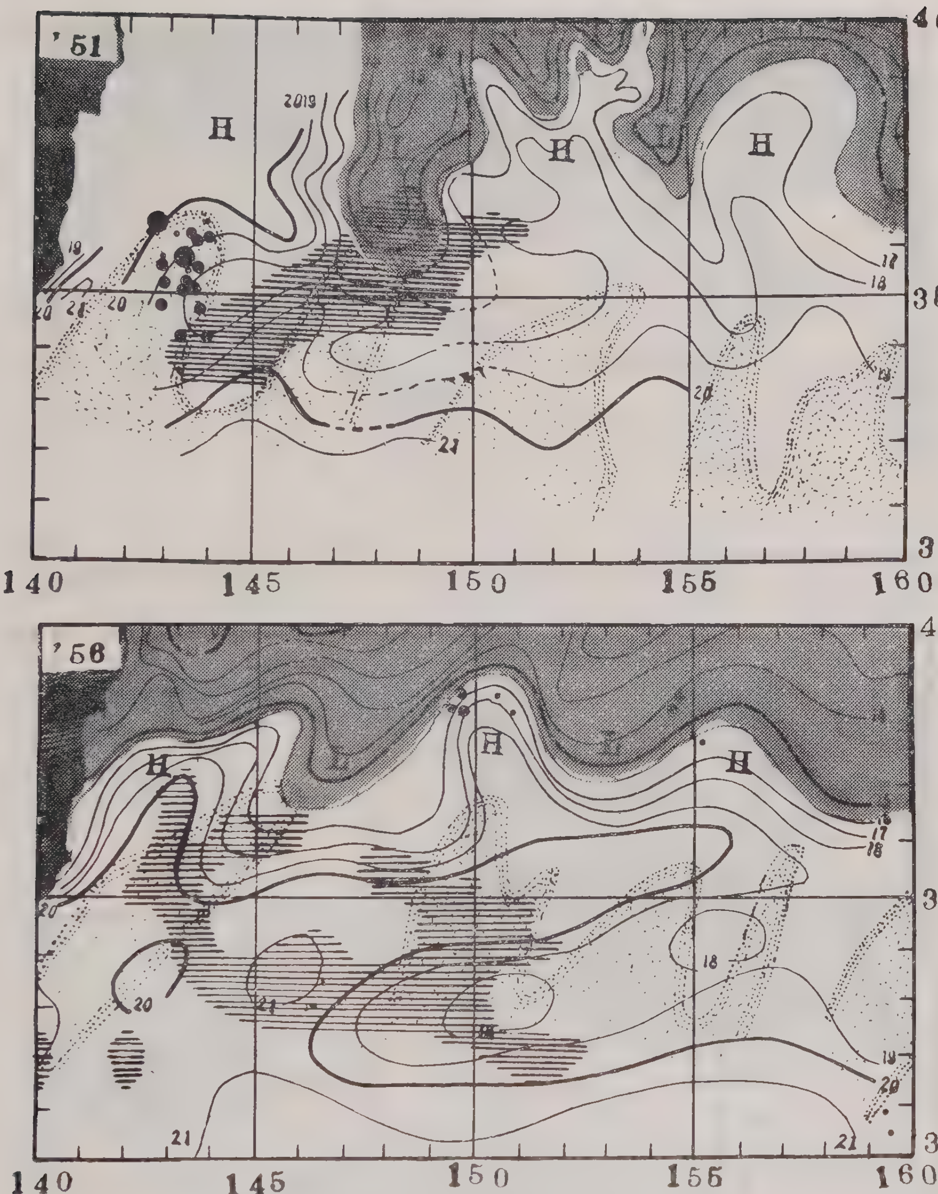


Fig. 2.　HLHLH pattern (HL repeating pattern)

に西偏して主漁場が形成されたが，近海漁場から沖合漁場へ漁場のリレー化が旨くされず，漁場は点在し，結果的には不漁に了つている。これらの年は冬季の魚群の溜り場から見ると翌年の夏大漁であつた西高東低東高東低東高の '51 年，'56 年の型に似ているが，この型の場合，夏ビンナガ漁場が大漁場とならず，漁獲も不漁に了つたのは (Table 1)，1 つには，'52 年，'57 年の夏ビンナガ大漁による魚価の暴落が災いして，漁船の漁獲意欲が振わず，150°E 以東の沖合漁場開拓が遅れたことが大きく影響していると思われる。また，'58 年の場合は三重県船などは漁期始めからカツオ漁に転換するもの多く，操業船数の大巾な減少*もまた

* 全国の竿釣り夏ビンナガ漁船数は最高 300 隻程度になるが，三重県，茨城県，宮城県などの漁船がカツオ漁に転換すれば，その数は約半数以下に急減する。

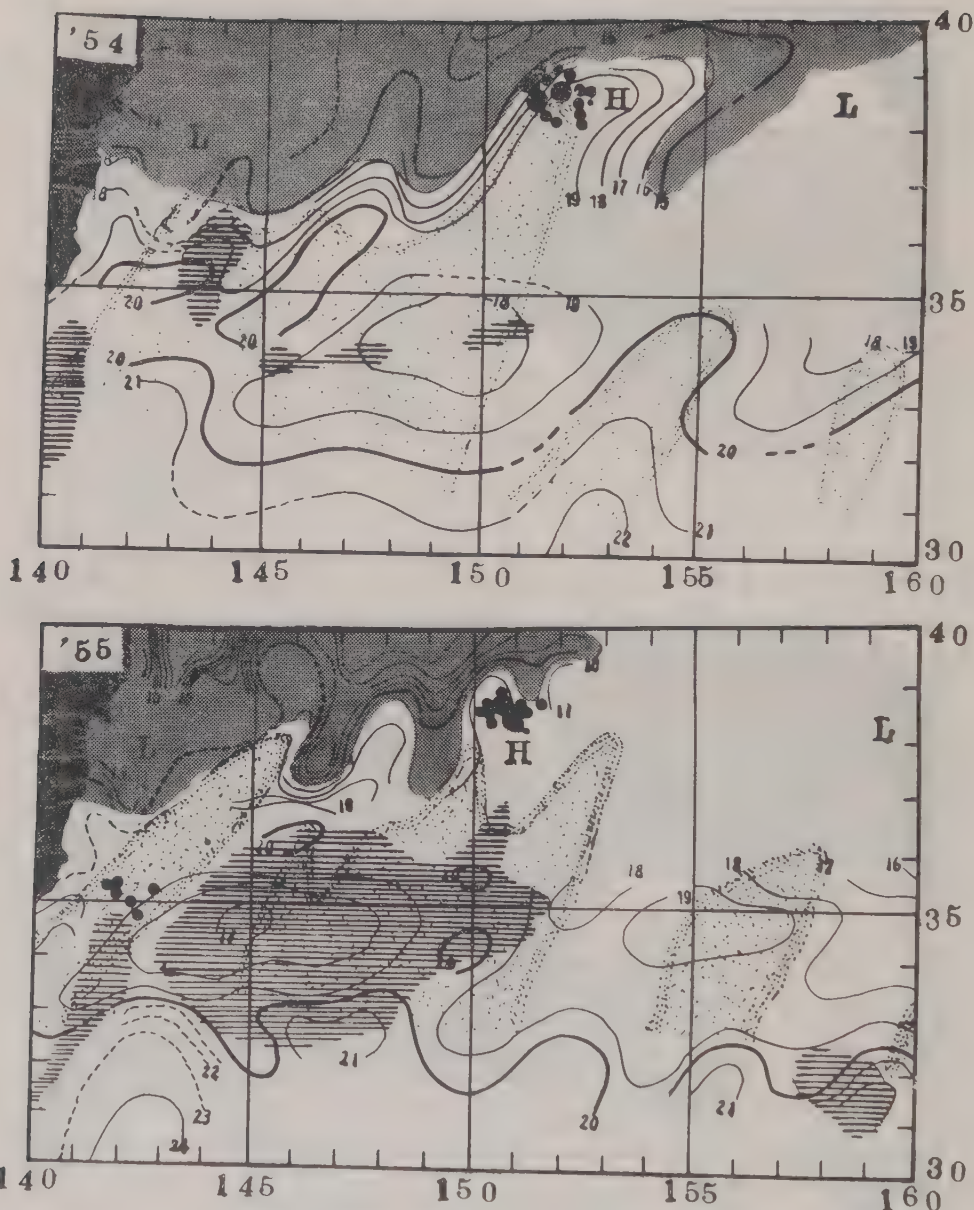


Fig. 3.　LHL pattern (LH repeating pattern)

総漁獲量を低下させることに拍車をかけたと見られる。このような悪条件がなければ，あるいは将来，この型で大漁場，大漁獲を見ることもあると思われる。

総じて，前年 12 月中旬頃の表面等温線資料より，漁場海域の環境から冬ビンナガの濃い溜り場を知ることができる。この濃い溜り場が本邦東沖近海に 2~3 カ所形成され，そこより魚群が環境誘導により導かれ近海群，沖合群と別個に南下するか，もしくは，近海群，沖合群が合流するような形で日本近海を南西下した場合には，翌年度の夏ビンナガ主漁場は西偏して近海に形成され，豊漁になる条件を具えているといえよう。

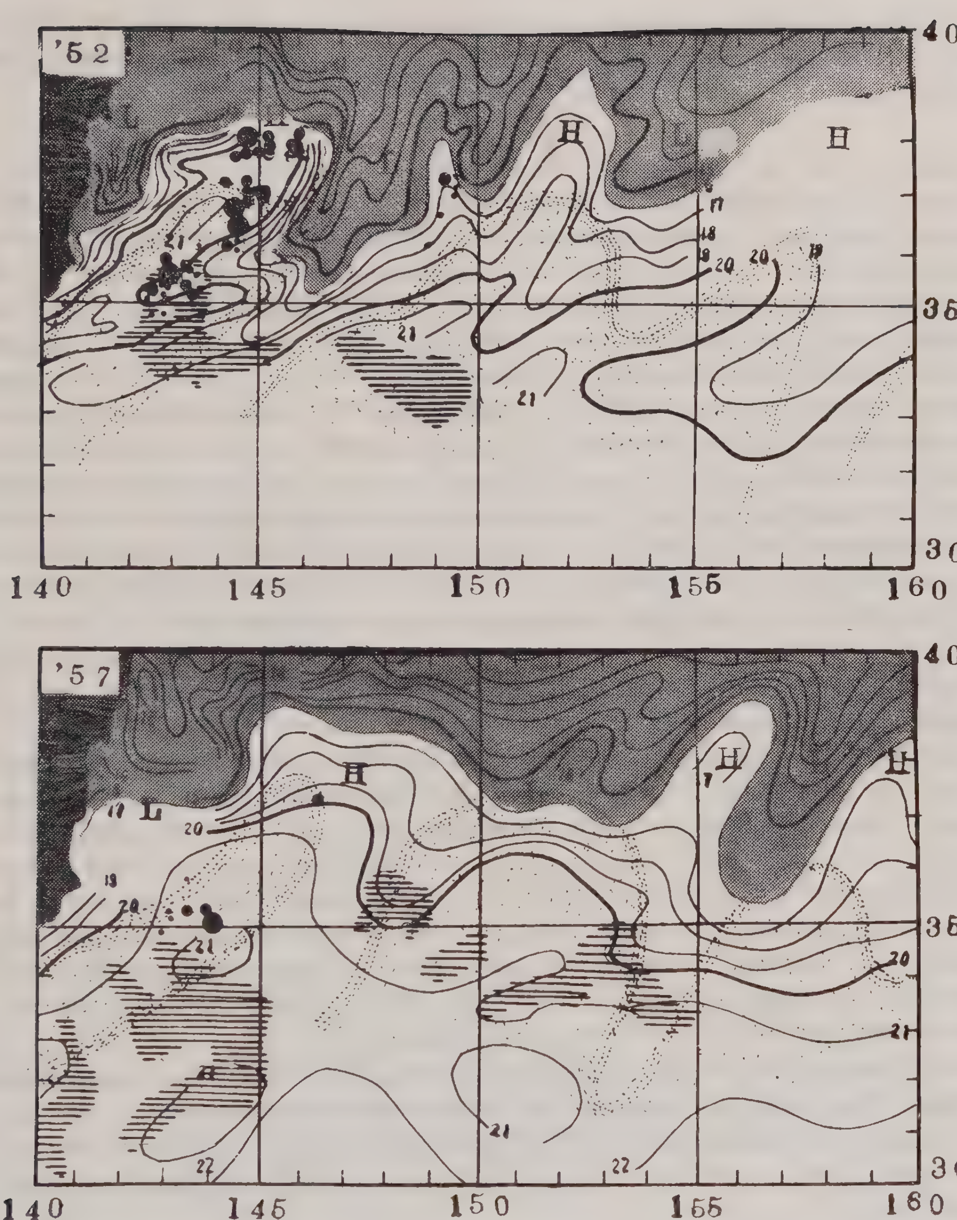


Fig. 4. LHLHLH pattern (LH repeating pattern)

反対に冬季，環境抵抗が日本沿岸に接して強く張り出し，そのため南下する魚群の溜り場が 150°E 以東に東偏し，その魚群の多くが，沖合を南下したと思われる年（'55 年）や，主たる濃い魚群の溜り場が近海に 1 個所しか形成されず，沖合群は分散して南下したと思われる年の夏ビンナガは漁場開発が積極的にうまく進められなければ，漁場が近海から沖合に飛び飛びに形成され，近海に大漁場が形成されないで，東沖合深く東偏する傾向があり，したがつて，近海で集中的に操業し，短時日で漁獲を挙げることは困難になり，総漁獲量は大きく低下するようになる。なお，南下する魚群は主として環境誘導沿いに南下することは漁場追跡の上からも[12–16]，疑いのないことである。また，環境誘導の巾，方向，近海から沖合にかけて出現する

数などが漁場の形成や漁獲の上にも影響をおよぼすことは充分考えられる。'53年，'55年，'58の夏ビンナガのごとく (Figs. 3～4)，夏ビンナガ漁期前の環境誘導が東西に巾広く存在することは，魚群を広く分散させながら南下させることになり，夏ビンナガの溜り場を分散させるようである。

考　　察

竿釣り夏ビンナガの漁場形成，漁獲の豊凶は究極には夏ビンナガ漁期中の海象，気象，海区別の魚群来游量の多寡，魚群の浮上状態，漁場選定の適否，魚価その他の社会的，経済的要因等の近因によつて綜合的に決定されるものである。しかし，本研究は夏ビンナガの漁場動態を過去にさかのぼり，冬から夏にかけて，歴史的に眺め，冬季からの海況変動が冬ビンナガの溜り場の位置や南下洄游径路を変動させ，また，それらの影響により，夏ビンナガの溜り場，すなわち，主漁場が大きく東西に変動したり，分散したりして，漁獲の上にも大きな豊凶の差を生ずる遠因をなすことを明らかにしたものである。したがつて，須田[17]が海況の漁況に対する影響は，一旦，漁場水域に添加された魚群の状態に関するものであり，変動の解析や漁況予察においても漁場における海況が支配的要因を持つことはおそらくあるまいと述べているが，著者は夏ビンナガ時季の漁場での海況だけでなく，さかのぼつて冬季からの巨視的に見た海況変動が夏ビンナガ漁場に至る冬ビンナガの洄游路を大きく変化させ，その結果，夏ビンナガの主漁場形成位置を東西に大きく変動させ，経験的な漁場選定を取りがちな漁業者をして，主漁場の選定や魚群の発見を困難にし，漁獲の豊凶の上にも大きな影響をおよぼしていることを指摘したい。また，単に夏ビンナガ漁場における海況を取上げても，年によつては漁期中ほとんど魚群が下層深く潜在する傾向を示したり*，魚群が数多く発見されても餌付不良で漁獲がほとんど挙がらなかつたりすることがある*。これらは餌料をも含めた海況変化の影響によつて魚群の生態が変化するためと考えられ，このような年には，むしろ海況が漁況の変動の支配的要因となることを強調したい。なお，海況以外に台風や低気圧の気象的影響も重要視されねばならない[19]。

従来から環境とビンナガ魚群の洄游，漁獲の豊凶に関しては，水温，塩素量等，無機的な物理，化学的環境について調らべられているが，本来はプランクトン，被捕食魚等の餌料生物を含めた有機的環境のもとに生態系として眺めなければならないであろう。環境誘導はその意味から，ビンナガ魚群の適温水帯であるばかりでなく，ビンナガにとつて，その時季，その海域における最も豊富な餌料の存在する水帯もしくは水塊であろう。また川合[6]の述べる東沖の W，W_1，W_2，････ の暖水塊的属性，川崎[9),10]の述べる高温，高塩のビンナガの生活環境の属性をも保有するものであろう。環境誘導の魚群に対する働きかけは，個体維持の本能にもとづく，冬季の適温，索餌洄游の時季に特に強く働らく，4月以降の夏漁期には漁場におけるイワシ等の游泳力のある天然餌料の移動によつてビンナガ魚群の移動が左右される。したがつて，夏季には冬季からの環境誘導の働らきは消失するか，弱められると考えられる。

今まで，洄游魚と漁場環境の研究は漁場成立時における環境構造の解明に重点が置かれ，無機的環境要素を断面的に static な状態で眺めている。そこには，おそらく洄游魚が環境を選択するという面が意識されていると思われるが，環境と洄游魚との関係や交渉は研究の困難な点も手伝つて，不明のままであることが多い。これは，おそらく，動物心理学的な別な面を含むものとして，敬遠され，関心事の外にいつも置かれるためであろう。

ここに，環境を生物との交渉[20]という面からとらえ，環境を機能的に考え，ビンナガの洄游する際に遭遇する主体的環境を阻止と誘導の相異なる作用を持つ機能的環境としてとらえた。このような環境理論により冬ビンナガ魚群の溜り場を明確に毎旬推定し，予知できるばかりでなく，魚群の洄游径路ならびに洄游の機構を次第に明らかにすることができよう。将来，本邦東方海域の海洋観測資料が生態学的に備えられれば，環境抵抗，環境誘導の属性をも明確に規定することができよう。また，各種魚類に対応する環境抵抗，環境

* '58，'59，'60 年の夏ビンナガは魚群探知機の記録より6月に入つても下層 200 m 層に潜在し，魚群の発見が困難であつたということが判明した。また '60 年5月下旬以降の魚群は全般的に餌付不良で漁獲が振わなかつた。

誘導も考えられ，実験生態学的にも究明することは興味もあり，水産学的にも意義のあることであろう。今後の研究課題として，機会を見て取上げたいと思う。

要　　約

1951～1959 年における本邦東方海域 140～160°E, 30～40°N 間の調査研究の結果，ほぼ次のことが判明した。

（1） 本邦東方海域の海況変動の型を冬から春の表面等温線の配置の高低より，HL 型，HLHLH 型，LHL 型，LHLHLH 型の 4 つの海洋型に分類した。

（2） 夏ビンナガ主漁場の東偏，西偏の因は前年 12 月中旬頃の冬季の海況変動により，環境抵抗，環境誘導の配置，勢力が変り冬ビンナガの溜り場が東偏したり，西偏したりすることが決定的要因をなすようである。

（3） 夏ビンナガの重要な豊漁条件の 1 つとして，冬ビンナガの溜り場が近海に西偏して 2～3 カ所形成され，そこより魚群が南下もしくは南西下しながら合流して，日本近海に西偏して，夏ビンナガの溜り場を形成することである。

（4） 夏ビンナガの重要な不漁条件の 1 つとしては冬ビンナガの溜り場が東沖合に東偏したり，あるいは近海から東沖合にかけて濃い溜り場が形成されず，冬ビンナガの分布が分散し，南下洄游するため，夏ビンナガの溜り場が分散し，漁場が不連続に東沖合に東偏して，点在するようになることにある。

（5） すなわち，冬季の海況変動は冬ビンナガの洄游径路および生態に変化を与え，夏ビンナガの豊凶にも大きな影響を与える。

終りに臨み，漁況報告を利用させて戴いている東北海区水産研究所所長木村喜之助博士並びに所員諸氏，南海区水産研究所所長中村広司博士始め所員諸氏の御好意に対して深謝する。また，理解ある援助を受けた本研究所所長松前重義博士，終始，激励と討議を戴いた本学岩下光男教授に感謝する。

なお，研究取纒めに際し，御校閲，御助言を戴いた三重県立大学水産学部石井一美教授に深謝する。

文　　献

1) 宇田道隆： 本誌，**4**，61～65 (1935).
2) 宇田道隆・徳永英松： 本誌，**5**，295～300 (1937).
3) 宇田道隆： 水産試験場報告，**10**，231～278 (1940).
4) 木村喜之助： "カツオ漁場図集（附．ビンナガ漁場)"，黒潮書房，東京 (1949).
5) 川合英夫： 東北海区水産研究所報告，**5**，8～24 (1953).
6) 川合英夫： 東北海区水産研究所報告，**13**，13～59 (1959).
7) 川崎　健・相沢幸雄： 東北海区水産研究所報告，**6**，82～92 (1956).
8) 川崎　健： 東北海区水産研究所報告，**9**，69～107 (1957).
9) 川崎　健： 東北海区水産研究所報告，**10**，29～45 (1957).
10) 川崎　健： 東北海区水産研究所報告，**16**，12～20 (1960).
11) 須田　明： 本誌，**21**，314～319 (1955).
12) 井上元男： 本誌，**23**，673～679 (1958).
13) 井上元男： 本誌，**25**，424～430 (1959).
14) 東海大学水産研究所： ビンチョウ鮪漁場予報，No. 1～138 (1953～1960).
15) 井上元男： 東海大学水産研究部，漁業資料，**3**，1～17 (1953).
16) 井上元男： 東海大学水産研究部，漁業資料，**6**，1～33 (1954).
17) 須田　明： 南海区水産研究所報告，**9**，103～115 (1958).
18) 気 象 庁： 全国海況旬報，(1951～1959).
19) 井上元男： 水産週報，**285**，2～4 (1960).
20) 渋谷寿夫： 理論生態学，理論社，東京，167～179 (1960).

魚群探知機による魚群構造の調査—I.*

1959年2月観察の東海中部のタチウオの群構造

青 山 恒 雄

(1960年9月26日受理)

STUDIES ON THE STRUCTURE OF FISH SHOALS BY MEANS OF FISH FINDER—I.

ECHO PATCHES OF HAIR-TAIL OBSERVED AT THE MIDDLE AREA OF THE EAST CHINA SEA, IN FEBRUARY 1959.

Tsuneo Aoyama**

By use of fish finder (24 kc) carried by the Tōkō-maru, the inspection vessel of the Fishery Agency, trial observations of hair-tail shoal were done at the central part of the East China Sea on February 19th and 20th, 1959. The admissible conclusions derived from these researches are reported as follows.

1) Each shoal restored from echo traces formed an ellipse in shape, about 4 to 5.5 miles along the transverse axis and 3 to 4 miles along the conjugate one, with its depth measuring 10 meters or so.

2) In the observed area covering about 170 square miles, more than three masses of fish were found to be arranged in succession from east to west or northwest, the distance between centers of such neighbouring masses beeing about 5 miles.

3) Hair-tail of this area distributed along sea bottom from after the sun-rise till sometime before the sun-set, while swam in middle layer of water by night.

4) The volume of fish contained in a single mass described above was estimated at about 1,550 tons, being about 11,000 times of the catch taken by 1 mile hauling through such mass.

近年における魚群探知機の発達[1)-6)]は研究面への応用の可能性を増してきた。石田等[7)]および横田等[8)]は魚群量の推定に，神浦[9)]は魚群構造や分布様式の解析に，また TUNGATE[10)]は魚群の分布移動の追究にそれぞれ魚群探知機を活用し，すぐれた報告を出している。魚群の分布様式や構造を知ることは資源解析の根幹である平均漁獲量の性格を明確にする上にも，また漁獲努力の質を正確に評価する上にも有効である。さらに魚群探知機の記録から，魚群量自体の推定が可能となれば資源解析は強力な支援をうけることになる。こうした観点から筆者らも以西底魚資源調査に魚群探知機の活用を計画している。

ここには 1959 年 2 月に水産庁の東光丸 (1,112 トン) により試行した調査の結果を報告する。場所は東海中部の農林 289，290 区，使用魚群探知機は 24 kc，半減角 28° のものである。また位置は変針の都度ローランにより求めた。

種の判別

2 月 19，20日両日の航跡をそれぞれ Figs. 1，2 に示した。19 日 18^{30} まではトロール操業で，以後は魚群調査のための航走である。Fig. 1 の I～IV の数字は操業網次を示している***。操業にかかる資料は

* 西海区水産研究所研究業績 第 122 号

** 西海区水産研究所 (Seikai Reg. Fish. Res. Lab.).

*** 本操業は前日とあわせ，おおい網式トロール網におけるおおい網の効果の検出のために計画されたもので，同一地点での折りかえし操業となつている。

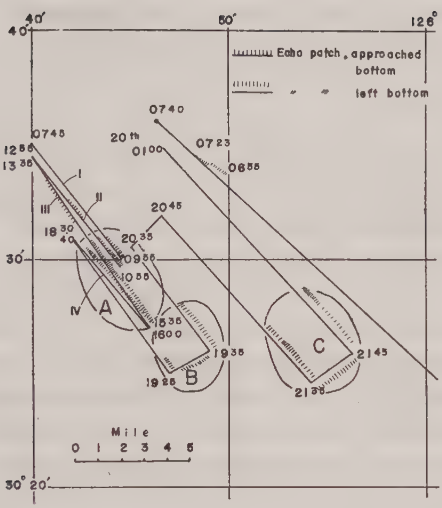


Fig. 1. Course of the cruise on February 19th, and the ranges where the echo traces of fish shoals were observed.

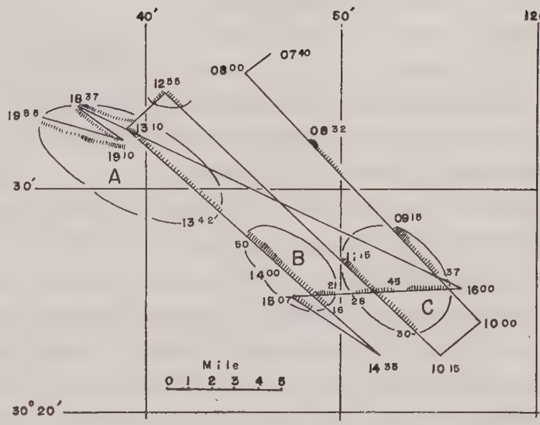


Fig. 2. Course of the cruise on February 20th, and the ranges where the echo traces of fish shoals were observed.

Table 1. Data on haulings conducted on February 19th, 1959.

Haul	Time		Depth of water	Bottom matter	Water temp.		Velocity	Gear
	Beg.	End			Surface	Bottom		
	h m	h m	m		°C	°C	kt	
1	07 45	09 55	70	m. S.	11.3	12.6	3.3	Control net
2	10 55	12 55	70	S. M.	11.8	12.2	〃	Covered net
3	13 35	15 35	72	〃	12.0	—	4.6	〃
4	16 00	18 00	74	〃	11.4	14.1	2.9	Control net

Table 1 のとおりである。漁獲された種類は 18～25 種であつたが，数的にはタチウオおよびグチ類幼魚(豆グチ) が主で他は僅少であつた。Table 2 に種別の漁獲量を個体数および箱数で示した。第2第3網次はおおい網式であるが本表はおおい網の漁獲物を含んでいない。個体数の上ではタチウオについでグチ類も多いが，体型に大差があるので量的にはタチウオが卓越している。

Table 2. Catches indicated by number of individuals and boxes.

Species \ Haul / Unit.	1		2		3		4	
	ind.	box	ind.	box	ind.	box	ind.	box
Hair-tail	1,277	15	1,522	16	1,979	31	389	5
Yellow croaker	1,028	} 2	523	} 3	1,077	} 3	1,702	} 3
White croaker	334		591		242		465	
Others	252	2	321	1.5	123	≒ 0	313	2
Total		19		20.5		34		10

Hair tail, *Trichiurus lepturus* LINNÉ; Yellow croaker, *Pseudosciaena manchurica* (JORDAN et THOMPSON); White croaker, *Argyrosomus argentatus* (HOUTTUYN).

Fig. 1, 2 には魚群像のみられた範囲を示してあるが，像を濃淡と海底への離着とに分けて Table 3 に別に示した。像の読みについて横田等[8] は詳しい報告を行なつているが，底魚の像については記録像を量的に解読する上に多大の問題があるので，ここでは解読をさけ，大まかに濃淡に2別した上距離のみを求めた。Tables 2, 3 を対比させると像の主体がタチウオであつたとしてよいようである。

Table 3. Length in mile of section of shoal estimated from the echo traces.

Kind of trace		Haul 1	2	3	4
		M	M	M	M
Dark trace	Approached bottom	1.2	1.6	2.2	
	Left bottom				2.4
Light trace	Approached bottom		1.0	2.3	
	Left bottom			2.3	2.0

つぎに漁獲魚の鮮度，損傷度等から入網時期を推定してみたが，グチ類では特別の結果はみられなかつたのに対し，タチウオでは魚探像の出現時期とよく符合した結果を示していた。すなわち第1網では全個体ほとんど無傷で活度も良好であつたが，第2網ではいずれも損傷がひどく，鱗粉の脱落も著しかつた。また第3網では各様の状態のものがみられた。この結果は上述の結果とあわせこの像の主体がタチウオであることを明瞭に示すものとしてよいであろう。

像の形は Fig. 3 にみられるように 10m 前後の帯状をなしており，単位 (shoal) の像は縦に細長い形をしている。とくに濃い像も散発的にみられたが全体的には平均した濃さで示されていた。両日を通じえられた像の形は皆近似していたので，これらを皆タチウオ群の像として検討を進めた。

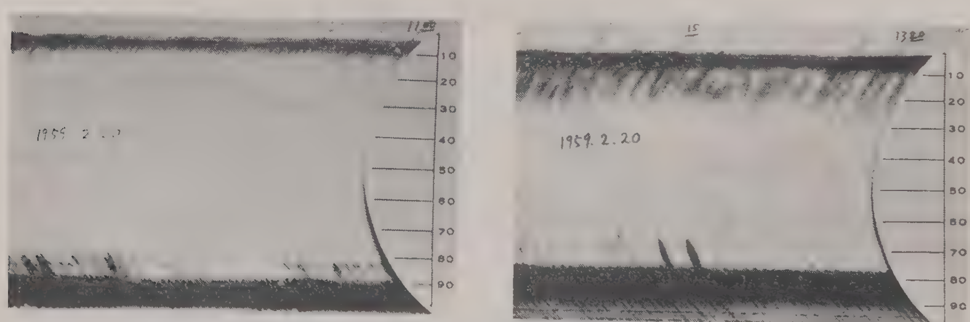


Fig. 3. Echo traces of hair-tail observed on February 20th, 1959, at the middle area in the East China Sea.

タチウオ群の分布

19日操業終了後ただちに魚群調査のため当の海域に移つたが，タチウオ群はすでに浮上拡散していた。20日も同一海域で調査を行なつたが両日の結果はよく符合しており，少なくとも3魚群の存在を示している。今便宜的にこれらを A, B, C 群と名付ける。A 群は 19 日には2つに分れて現われているが 20 日には一連の大群となつている。B, C 群には大きさ，位置ともほとんど変化がない。1 日間の位置のずれは B で NW に 1浬，C で W に 1.5 浬程度である。A でも W または NW に若干移動したようにみられる。

魚群はいずれも軸を NW に向けた楕円形で，長径 4～5.5 浬（20 日 A のみは9浬），短径 3～4 浬の大きさであつた。1 群の分布面積は $32 \sim 59 \times 10^6$ m² (20 日の A は 97×10^6 m²) と計算される。魚群像はこの範囲内で平均的に現われている*。

A, B, C 3 群は東西ないし北東—南西の方向につらなつている。これはこの時期の底水温および塩分濃度の

* 魚が全く平均的に分散しているということではない。この魚探の半減角は左右，前後 28° であるから，この探索域をもつて航走した際，平均的な像がえられたということである。

等値線にほぼ垂直な方向である。これら3群の南側は調査を行なつていないので言及できないが北側ではほとんど魚群を発見できなかつた。

タチウオの日周期活動

タチウオが時刻により顕著に游泳水深をかえることはよく知られたところで，しかもその移動の型に全く逆の2型があることも一般の通説である。底ひき漁業にとつては魚群の浮上は漁業圏からの逸出を意味するので漁業者は特に深い関心をもつている。東海産タチウオのうち，夏期大陸沿岸で漁獲されるものは日中沈下して夜間浮上するが，一方冬期に済州島西方で漁獲されるものは逆に夜間沈下するといわれている[11]が，大型が夜間，小型が昼間に着底する[12]ともいわれている。しかし実態は簡単なものではなく，環境条件により微妙な変化を示すものとみられる。本次調査の場合は日出やや前に沈下をはじめ日出やや後には着底していた。その間約 30 分を要した。日中は大体において海底から 10m 位までの間に分布していた。19 日の調査では午後2時頃浮上を開始し，20 日には午後6時（日没 18^{25}）に魚群を発見した際にはすでに浮上していた。夜間は中層まで浮上し拡散していた。この型は上述の大陸沿岸型になる。筆者らが 1959 年7月に上海沖漁場で調査した際には，タチウオ群は日出没前後2時間程の間もつともよく底につき，日中は幾分離底し夜間は完全に浮上拡散していた。なお両調査時とも魚体は小型が主であつた。

一群にふくまれる量の推定

魚群探知様の記録像を直接量に飜訳することは今日では探知機に関する技術上の問題から不可能とされている。本文では記録像と漁獲量との対応を用いて極く大まかではあるがつぎのような推定を試みた。

分布形を楕円とし Fig. 2, C の分布面積（S）を求めると

$$S = \pi a b \fallingdotseq 59,234,000\,\mathrm{m}^2$$

1浬曳網の漁撈面積 s_1 はオッターボード間隔を 70m とすると，

$$s_1 = 1.852 \times 70 = 129,640\,\mathrm{m}^2$$

魚の漁具に対する習性が不明なため，厳密な計算はできないが，網口方向への駆集効率をハンド・ロープで 0.2，袖間で 0.8 と見積り両袖間隔を 20m とすると，有効漁撈面積（s_2）は

$$s_2 = 1.852\,(25 \times 0.8 + 45 \times 0.2) \fallingdotseq 53,700\,\mathrm{m}^2$$

となる。したがつて面積から1浬曳網の漁獲率を機械的に求めると， $s_2/S \fallingdotseq 1/1.1000$ となる。

つぎに魚群の分布水深と網口の有効な高さとの関係が問題である。網と魚の習性との関係が不明なので正確には求められないが，一応網口の高さまでに分布する魚は網に捕獲されると仮定し，この網の網口の高さを 2m として計算する。つぎにタチウオ群の水深分布を解析してみよう。記録には海底から約 10m 上までの層にほぼ均等な像がみられる。使用器種の指向角は 28°，水深は 70m であつたから，像の記録では厚みが最大 (70−10) (sec 28°−1) ≒ 8 (m) 過大に示される可能性がある。 しかし 19 日には良い漁獲をえているので魚群の底が漁獲可能水深以下にあつたことは確かである。これらを考え記録を観察して，この時の群は日中海底から約 10m 上までの間に分布したが，分布は均等ではなく，分布の中心は上層に偏つていたものと判断した。今分布密度が上下両端で0中間の1点で最大値をとり直線的に変化しているとして，海底から 2m までの間に含まれる魚群の割合を計算すると，最大密度の点が海底から 5m にあつたとした場合が 0.08，8m のときが 0.05 となる。この値を過大に見積つて 0.1 とすると，1浬曳網の有効漁獲率は 1/11,000 となる。

つぎに Tables 2, 3 から，魚群上1浬曳網当り漁獲量を大まかに推定する。濃像のみられた時の魚群密度を淡像の時の2倍とし，海底から離れた像のみられる時の羅網率を着底したものの 1/10 とすると，1浬曳網当り漁獲量は淡像で 4.5 箱，濃像で9箱となる。この値で前述の C 群の魚群量を計算すると（濃像が約 30% として）64,500 箱（1,550 トン）となる。ちなみに 1959 年 2 月のこの附近海域（農林 289,290 区

を中心とした12漁区）でのタチウオ総漁獲量をみると，17,734 箱，以西全域では 82,238 箱であつた。また 1958 年の年間総漁獲量は 1,021,625 箱で C 1 群の約 16 倍である。これらの値をみると魚群量の推定値が過大に感じられる。計算の過程ではつねに漁獲率が過小推定になることを避けた積りであるから，推定魚群量は過少標価値の筈である。しかし記録像の読みとりに今日なお多くの問題があること，および計算の過程で多くの仮定を設けているので，本文では計算結果を紹介するにとどめたい。

摘　　要

1959 年 2 月 19，20 日の両日，東光丸（1,112 トン，トロール）により，東シナ海農林 289，290 区において魚群探知機（24 kc，半減角 28°）によるタチウオの魚群構造の調査を行いつぎの結果をえた。

1）群は NW—SE にむく長軸を持つた楕円形をしており，大きさは長径 4～5.5 浬，短径 3～4 浬であつた。日中沈下している時の分布水深の巾は約 10 m であつた。

2）調査海域内で少なくとも 3 つの群が確認された。これらは E から W～NW にむけて連つており，群中心の間隔は 5 浬内外であつた。

3）この海域のタチウオは日出前後に沈下して日中は底層に分布するが，日没前に浮上し，夜間は中層以上に拡散した。

4）多くの仮定を設けているので正確ではないが，魚群上 1 浬曳網の有効漁獲率は日中で 1/11,000，タチウオ 1 群に含まれる量は 1,550 トン内外と推定された。

本調査に協力頂いた東光丸乗組員の諸氏および本稿の御校閲を頂いた西海区水研遠洋資源部長村上子郎博士に深謝申し上げる。

文　　献

1）川田三郎：魚群探知機，東海出版 K. K.（1956）.
2）橋本富寿・間庭愛信：漁船研技報，9，（1956）.
3）橋本富寿・間庭愛信：——，9，（1956）.
4）橋本富寿・西村　実：——，9，（1956）.
5）橋本富寿・間庭愛信・西村　実：——，10，（1957）.
6）西村　実：——，12，（1958）.
7）石田正己・鈴木恒由・佐野典達：北大水産研究彙報，**5**，4，（1955）.
8）YOKOTA, T., T. KITAGAWA and T. ASAMI：本誌，**19**，4，（1953）.
9）神浦藤雄：南水研究報，9，（1958）.
10）TUNGATE, D. S.：*Fish. Invest.* Ser. II. **22**，2，（1958）.
11）真子　渺：東海黄海における底魚資源の研究，4，（1957）.
12）最首光三・小島喜久雄：西水研研報，19，（1960）.

かまぼこにおける蛋白・油・水系の研究—V. 油の混入による足の変化とでんぷん*

池内常郎・清水亘

(1960 年 7 月 7 日受理)

STUDIES ON PROTEIN-OIL-WATER SYSTEM IN *KAMABOKO*—V. EFFECT OF STARCH ON ELASTIC PROPERTIES OF *KAMABOKO* CONTAINING OIL.

Tuneo Ikeuti and Wataru Simidu**

Even in such a case when the elastic properties of *kamaboko* was decayed as a result of adding oil to modify the quality, it was found that starch added together with the oil not only kept the elasticity of *kamaboko* in good condition but also happened to strengthen it markedly.

すり身から油が遊離したとき水を加えると油がふたたび吸収され，均一なすり身になるという事実が発見されたが[1]，水を加えればすり身自身が軟らかになりすぎるおそれがある。そのときでんぷんを加えて調節すればよいわけであるが，それによつて足はどのように影響されるであろうか。

試験の結果，油の混入によつて足が落ちるような場合でも，でんぷんさえ共存すれば足の低下が防止されるばかりでなく，むしろかえつて足が強化される事実が見出された。

実験 I.

氷蔵輸送されたシログチを氷で冷却しながら採肉，水晒し，脱水，挽肉し，氷塊の存在下で 20 分間擂潰し，室温 (22°C) に 1 昼夜放置したのち実験に供した。擂潰中の氷の融解によりすり身の水分量が多くなりまた擂潰後比較的高温度に放置したために，足はかなり低下したと思われる。すり身の水分を 85% とみなして（実除は 87.0% であつた），濃度が 4% になるように食塩を加え，その一定量に 0%，7%，および 15% のコムギでんぷんを加えて 5 分間攪拌し，さらにその一定量にそれぞれすり身に対して 0%および20 % の精製ダイズ油を攪拌しながら滴滴混和し，ただちに成形した。すり身はつねに氷で冷却して 10°C 内外に保ち，成形後室温 (22°C) に 40 分間放置したのち 100°C で 20 分間蒸煮した。1 夜放置後志水・清水[2] に従つて破断応力および破断伸張を測定し，それからヤング率および足の強さを計算した。その結果は Fig. 1 のとおりである。すり身の pH は 6.0 (MR)，はじめの含油量は 1.00% であつた。

この結果によれば破断応力は油の有無にかかわらず，でんぷんの増加により急激に増大している。しかも増大の割合は油を添加したほうがむしろ大きい。またでんぷん 0% の場合には油を添加したほうがやや小さいが，でんぷん量の増加とともに逆になつている。破断伸張は油を添加しない場合にはでんぷん量を増しても変化がないが，油を添加した場合にはでんぷん量の増加とともに急に大きくなる。無でんぷんの場合には油の添加により破断伸張がやや減少するかにみえるが，でんぷんの増加にともない油を添加したほうがはるかに大きくなることは破断応力の場合と同様である。

---

* 1955 年 10 月 28 日，日本水産学会で講演。

** 京都大学農学部水産学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

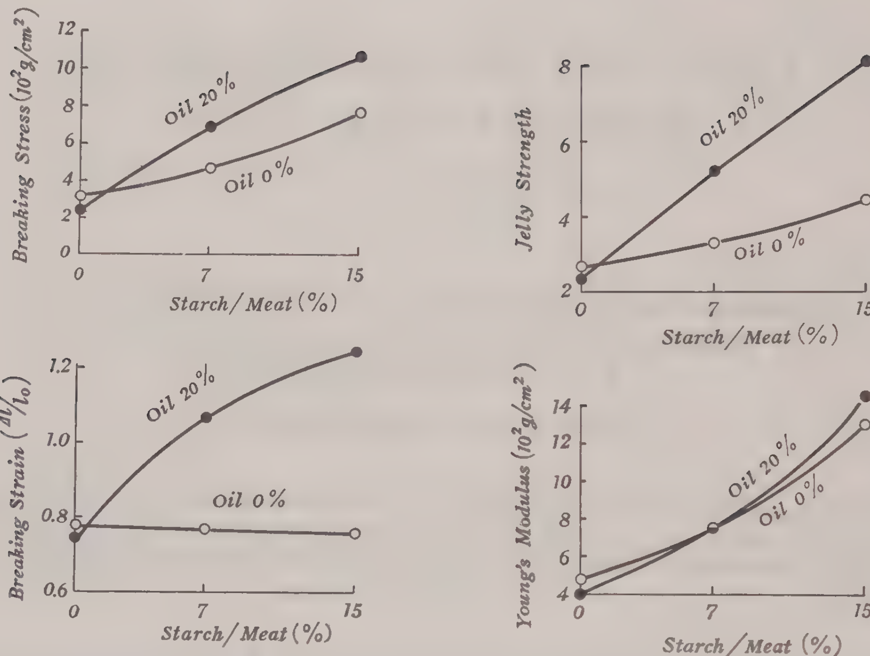


Fig. 1. Effect of added oil on the elastic properties of *kamaboko* containing various amounts of starch.
○ and ● showing the amounts of oil added to *kamaboko* containing various amounts of starch.

破断応力および破断伸張から計算した足の強さはでんぷんの添加のみによつても多少の増加がみられるがこの実験では水分含量が多かつたので，とくにでんぷんの効果が大きく現われたのかも知れない。油を添加したほうはでんぷんの添加による足の強化がいつそう目立つ。しかもその強化の割合が大きいことは注目に値する。でんぷんの足は主として破断応力の増加に役立ち，破断伸張にはあまり影響がなさそうである。すなわちでんぷんの添加により硬く，強固になる。これに反して油は柔軟性を与え，伸びを大きくするようである。その両者の相乗効果が足として現われるわけである。ヤング率は油の有無に関係なく，でんぷんの増加とともに急激に増大している。このこともでんぷによる足の補強が主として破断応力の因子に大きく影響されることを示すものである。

実　験　II.

以上は弱足原料の場合であるが，つぎに強足原料の場合における油の影響をみるために，冷蔵のシログチを実験 I と同じ方法ですり身とし，水分含量を 80% とみなして（実際は 84.1% であつた），濃度が 4 % になるように食塩を加え，その一定量に 2 倍量の 4 % 食塩水に溶かしたでんぷんをすり身に対してでんぷん量が 0%，7% および 15% になるように加えて 5 分間攪拌し，さらにその一定量にそれぞれすり身に対して 0%，15%，および 30% のダイズ油を攪拌しながら滴滴混和し，成形した。すり身はつねに氷で冷却しながら約 8°C に保ち，成形後室温 (20°C) に 40 分間放置して 100°C で 20 分間蒸煮した。1 夜放置冷却してから志水・清水[2] に従つて破断応力および破断伸張を測定し，ヤング率および足の強さを計算した。すり身の pH は 5.8 (MR)，油添加前の含油量は 1.21% であつた。実験結果は Fig. 2 のとおりである。

でんぷんを加えない場合には油の混入量 15% くらいまでは破断応力，破断伸張ともに大きい変化はなく，その限度を越すと急に低下する。これはすでに前報でも述べたところである。でんぷんが加わると破断応

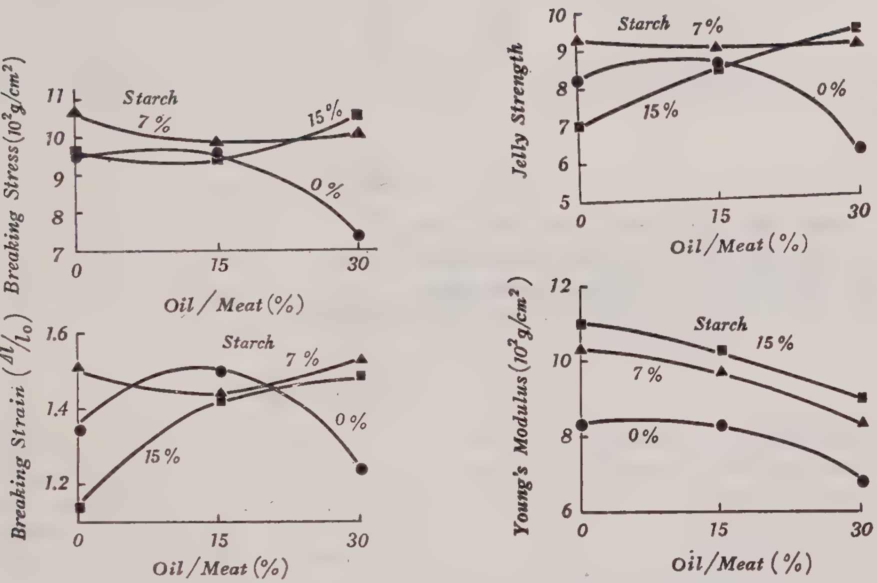


Fig. 2. Effect of added starch on the elastic properties of *kamaboko* containing various amounts of oil.
●, ▲, and ■ showing the amounts of starch added to *kamaboko* containing various amounts of oil.

力，破断伸張ともにやや増加の傾向がみられ，とくに破断応力の増加が目立つ。しかしでんぷん量が過度になるとかえつて減少する。このさいでんぷんはその2倍量の4% 食塩水とともに加えたのであるが，この条件下ではでんぷんゼリー強度は魚肉自身のそれに及ばないことはすでに報告した[3)]。でんぷんを加えた上にさらに油が混入されるとゼリー強度はむしろ上昇する傾向がみられ，でんぷん量が多いほどこの傾向はいちじるしい。破断応力および破断伸張から計算した足の強さも油の混入によるその低下がでんぷんの添加によつて防止され，でんぷん量が多くなればかえつて足の強さがいちじるしく増強されることが知られた。すなわち足の強さに対する油とでんぷんとの相乗効果があらわれるのである。ヤング率はでんぷんの添加によつて大きくなり，製品が硬くなることがうかがえる。もつともこれは添加水量の割合によつて異るのはいうまでもない。

考　　察

実験 I と II とでは原料魚肉の性質に大差があり，したがつてでんぷんと油の添加によるゼリー強度の変化にも差を生ずるはずである。たとえば実験 I では魚肉の足が弱く，しかも水分量が多いから，でんぷん添加の効果がいちじるしく現われている。しかし実験 II では強足原料であるから，でんぷんの添加は，その量が過度になるとかえつて足が落ちる場合さえある。これはでんぷんの足が魚肉自身の足に劣るからであろう。もつともこの場合にはでんぷんの2倍量の4% 食塩水が添加されているから，その量によつて製品の硬さに差を生じ，ひいては足に変化が起ることは明らかである。しかしでんぷんに2倍量の水を加えたでんぷんだんごの硬さとほぼ同等であることが知られているから[4)]，でんぷん添加による足の低下は硬さによる影響ばかりでなく，本質的なものかも知れない。

このように魚肉の性質によつて足の強さに及ぼすでんぷんの影響に差はあるが，それにもかかわらず，でんぷんが油の添加により足の低下を防止する効果のある点では変りがない。すなわち油はその添加量が限度

を越すと足を落とすが，でんぷんが共存すれば足の低下が防止され，さらに足を強加するのである。

要　　約

油の添加によつて足が落ちるような場合でも，でんぷんが共存すればその低下が防止され，さらに足を強化することさえある。

文　　献

1) 池内常郎・清水　亘：日水会誌，**25**，316，(1959).
2) 志水　寛・清水　亘：日水会誌，**19**，596 (1953).
3) 志水　寛・清水　亘：日水会誌，**20**，898 (1955).
4) 志水　寛・清水　亘：日水会誌，**20**，893；895；898 (1955).

水産物の糖蛋白に関する研究—I.

ナマコおよびフジコより糖蛋白の分離抽出について

元 広 輝 重

(1960 年 7 月 14 日受理)

STUDIES ON MUCOPROTEIN IN MARINE PRODUCTS—I. ISOLATION OF MUCOPROTEIN FROM THE MEATS OF *STICHOPUS JAPONICUS* AND *CUCUMARIA JAPONICA*

Terushige MOTOHIRO*

The extraction method of mucoproteins from the muscle tissues of sea cucumbers, *Stichopus japonicus* and *Cucumaria japonica*, was examined, and the extraction with water after homogenizing the tissues in a Waring blendor was found to be more effective than that with salt solution (Table 1).

Mucoproteins extracted by the two methods did not differ from each other in composition (Table 2). Analyses for nitrogen, sugar components and sulfate-S suggested that the mucoproteins from the both species have itin sulfate in common as the prosthetic group, which is composed of each one mole of hexosamine, hexuronic acid and sulfate. In addition, a neutral polysaccharide which is a polymer of hexosamine and neutral sugar component is also assumed to be present as a moiety of the mucoproteins from *S. japonicus*, and an acid polysaccharide containing sulfate in *C. japonica*.

ナマコ (*Stichopus japonicus* SELENKA), フジコ (*Cucumaria japonica* SEMPER) 粘質物中に糖蛋白の存在することは谷川[1]，真木・檜山[2]らにより報告されている。この糖蛋白の分離には粘質物の抽出液中に夾雑する各種蛋白を除去した後，有機溶媒で糖蛋白を沈澱させる方法がとられている。しかし，この方法はかなり煩雑な操作を必要とし，更に簡単な方法の考案が望まれる。

ここで，著者はナマコおよびフジコ粘質物から糖蛋白を水により抽出，分離する方法を考究し，従来法と比較検討したのでここにその結果を報告する。

材料および実験方法

1. 材 料

ナマコは函館近海で獲られた新鮮なものを市場より購入し，内臓を除去して直ちに使用した。フジコは8月根室近海で獲られ内臓を除去した後天日乾燥したものを用いた。

2. 糖蛋白の分離法

(i) 従来法[3]: 上記の材料を用い，ナマコはそのまま乳鉢中で細砕しフジコは一旦水戻しを行つた後細砕し，それぞれ6倍量の水を加えて 2〜3 回洗滌する。

細砕し洗滌した材料 300g を採り，1.8l の 0.85% 食塩水で2日間振盪し，抽出を行う。これを遠心沈澱 (3000 r.p.m., 10 分間) 後，清澄な液分を得る。沈澱物は更に同様に 0.85% 食塩水で処理を反覆する。抽出液は別個にセロファン袋に入れ，流水中で2日間透析する。透析後減圧下で液量が約 50cc となるまで濃縮する。濃縮中にできる析出物は除去する。ついで5.5倍量の 95% アルコールを注加し，羽毛状の沈澱

* 北海道大学水産学部 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate).

物を集める。これをアルコールとエーテルで洗滌し，五酸化燐デシケーター中で乾燥する。白色粉末が得られる。この 1.5g を 300cc の水に懸濁させ 5% 炭酸ソーダ溶液を滴下する。pH 8.4 とし溷濁している溶液を反覆して沪紙パルプを用い吸引沪過し，最後に乳白色となつた沪液を 2N 塩酸で酸性となし，pH 3.0 とする。沈澱を集めアルコール，エーテルで洗滌し，真空デシケーター中で乾燥，白色粉末状の糖蛋白を得る。

（ii） 改良法： 材料の処理法は従来法と同様に行う。

細砕し洗滌した材料 300g を採り，水 1.8l を加え約 7 分間 Waring blendor にかけ糊泥状とする。これを 4000r.p.m., 20 分間遠心沈澱させ上澄液を集める。沈澱は更に水で抽出する。上澄液は沸騰湯浴上で加温し，30 分後生成した凝固物を再び遠心沈澱（3000r.p.m., 10 分間）により除く。この上澄液を減圧濃縮し液量を 50cc とする。95% アルコール 300cc を注加する。糖蛋白は粘稠性ある沈澱となつて沈下する。これを硝子棒に附着させて集め，アルコール，エーテルでよく洗滌した後，五酸化燐デシケーター中に乾燥する。この方法により得られる粗物質 1.5g に活性炭を加え 100cc の水に懸濁させる。5% 炭酸ソーダ溶液を加え pH 8.4 とする。これを沪紙パルプを通して吸引沪過し色素を除去する。最後に乳白色となつた溶液を 2N 塩酸で酸性となし pH 3.0 として生ずる沈澱を集めアルコール，エーテルで洗滌した後，真空デシケーター中で乾燥する。白色粉末状の糖蛋白を得る。

3. 糖蛋白の成分分析法

（i） 窒素： micro-Kjeldahl 法により定量した。

（ii） 水解性硫黄： Osaki 法[4] により試料を 1N 塩酸で封管中 10 時間加水分解し，塩化バリウムを加えて硫酸バリウムとして重量法により定量した。

（iii） hexosamine： Elson-Morgan 法[5] により定量した。

（iv） hexuronic acid： Dische 法[6] によつた。

（v） 還元力： 約 10mg の糖蛋白を 1N 塩酸 8cc とともに還流冷却管を付して 4 時間加水分解した。ついで 4N 苛性ソーダ 2cc を加えて中和した後，蒸溜水を加えて全量を 12cc とし 0.005N フェリシアナイドを注加し，藤田法[7] により還元力を測定した。

実験結果および考察

1. 水抽出法による糖蛋白の抽出効果

従来法における組織から糖蛋白を抽出するのに弱アルカリまたは各種塩類溶液を使用しているのは組織の破壊または組織間の結締を解くことを目的としている。したがつて水抽出法による場合は組織間の結締を機械的方法でゆるめなければならない。このため水抽出法においては Waring blendor によつて組織を可及的細砕するようにした。ここで水抽出法および従来行われていた食塩水抽出法により糖蛋白の抽出量にどの程度の差異があるかをしらべるためナマコおよびフジコ（いずれも湿潤材料）を用いて，その抽出回数と抽出量との関係について実験を行つた。

その結果を示せば Table 1 のようになる。

Table 1 の結果をみるに水抽出法による場合の方が食塩水抽出法による場合より収量は生組織 100g 当り 50mg 程度高い値を示した。

抽出回数と抽出量との関係をみるに第 1 回の抽出操作により食塩水抽出法ではナマコ，フジコともに 60～63% の抽出率を示したのに対し，水抽出法では 75.5～77.4% であつて水抽出法は最初からかなり高率で糖蛋白の抽出されることが判る。これは Waring blendor 使用により組織の破壊が充分行われた結果と考えられる。

抽出量からみたナマコおよびフジコの糖蛋白はナマコは約 150mg 程度フジコより多量に含有するように見受けられる。

以上の結果から水抽出法によつてもナマコおよびフジコを材料とする場合，糖蛋白の抽出は食塩水抽出と

Table 1. Comparison of the two methods for extraction of mucoproteins from muscle tissues of *Stichopus japonicus* and *Cucumaria japonica*. The yield of mucoproteins is given in mg. per 100 g of raw muscle tissues.

Material	*Stichopus japonicus*				*Cucumaria japonica*			
Method	A*		B**		A*		B**	
Extraction	Mucoprotein (mg)	Rate of extraction (%)	Mucoprotein (mg)	Rate of extraction (%)	Mucoprotein (mg)	Rate of extraction (%)	Mucoprotein (mg)	Rate of extraction (%)
1st	900	60.0	1,200	77.4	850	63.0	1,050	75.5
2nd	300	20.0	200	12.9	200	14.8	200	14.4
3rd	150	10.0	100	6.5	150	11.1	70	5.1
4th	100	6.7	50	3.2	100	7.4	50	3.6
5th	50	3.3	0	0	50	3.7	20	1.4
6th	0	0.0	0	0	0	0	0	0
Sum	1,500	100.0	1,550	100.0	1,350	100.0	1,390	100.0

* A routine method using 0.85% NaCl solution as extractant. ** The present method.

Table 2. Analysis of mucoproteins of two species of sea cucumber extracted by the two methods.

Material	*Stichopus japonicus*				*Cucumaria japonica*				*Stichopus japonicus***	Molar ratio
Components / Extracting method	0.85% NaCl soln.	Molar ratio	Water	Molar ratio	0.85% NaCl soln.	Molar ratio	Water	Molar ratio		
Nitrogen (%)	13.00		13.00		8.23		8.20		13.03	0
Sulfate-S (%)	1.29	0.92	1.30	0.94	2.58	1.84	2.58	0.98	1.27	0.98
Amino-sugar (%)	15.59	2.00	15.64	2.00	15.64	2.00	15.66	2.00	15.66	2.00
Hexuronic acid (%)	7.92	0.94	7.85	0.92	7.88	0.92	7.85	1.02	7.83	0.92
Carbohydrate (%)									7.81*	1.06

* As galactose. ** Analytical data on the mucoprotein prepared by Tanikawa who used the Wörner's method.

同程度の効果を有し，Waring blendor 使用により組織の破壊が充分行われる結果，迅速に糖蛋白の抽出されることが明らかである。しかも，水抽出によれば食塩水抽出の場合行わなければならない透析操作を省くことも可能であり，この点時間的に簡便であると考えられる。

2. 水抽出法および食塩水抽出法により得られる糖蛋白の成分々析

前項において水抽出法により得られる糖蛋白量は食塩水抽出法により得られるより幾分高い値を示すように見受けられた。このことから水抽出法によつて得られる糖蛋白に他種蛋白などの夾雑することも予想される。よつて食塩水抽出法ならびに水抽出法により分離された糖蛋白成分の分析を行うこととした。

Table 2 は食塩水ならびに水抽出法によつて分離した糖蛋白成分の分析結果を示す。

Table 2 の結果をみるに食塩水抽出法および水抽出法によつてナマコおよびフジコからそれぞれ分離される糖蛋白の組成にはほとんど差異は認められなかつた。ナマコについてはすでに谷川[1] が Wörner 法によつて糖蛋白を分離しているが，その組成と本実験で分離した糖蛋白の組成はほぼ一致している。これらの事実から水抽出法，食塩水抽出法，Wörner 法による糖蛋白の分離には差異はないものと考えられる。

以上のように食塩水抽出法，水抽出法によりナマコおよびフジコのそれぞれについて得られる糖蛋白には組成上に差異は認められないが，ナマコ糖蛋白およびフジコ糖蛋白の間には組成比にかなりの差異があるものと推察される。すなわち谷川[1] も報告しているようにナマコ糖蛋白では hexosamine: hexuronic acid: S＝1：1：1 に結合したいわゆる itin 硫酸および hexosamine: carbohydrate＝1：1 に結合した中性多糖類の存在することが Table 2 におけるナマコ糖蛋白の各組成のモル比を検討し推察される。一方，フジコ糖蛋白においては Table 2 における各組成のモル比よりナマコ糖蛋白と同様に hexosamine: hexuronic acid: S＝1：1：1 の itin 硫酸の存在が考えられると同時に，ナマコ糖蛋白中には含有されないと思われる hexosamine, hexuronic acid を含有しない carbohydrate: S＝1：1 の結合比をもつ酸性多糖類の存在が予想される。これらのナマコおよびフジコに存在すると考えられる itin 硫酸の性状ならびにフジコ糖蛋白中に存在すると考えられる酸性多糖類の性状については後報において報告する予定である。

以上の結果から抽出法の差異による糖蛋白の収量の差異は認められず，したがつて本報で報告した水抽出法によりナマコおよびフジコ糖蛋白の分離はきわめて容易に行われ得るものと考えられる。

要　　約

ナマコおよびフジコから糖蛋白を分離するため水抽出ならびに Waring blendor 使用により簡単に目的を達成し得ることをみた。

水抽出法により分離される糖蛋白の配合族多糖類としてナマコには hexosamine, hexuronic acid, sulfur よりなる一種の itin 硫酸および hexosamine, carbohydrate よりなる中性多糖類の存在が推察された。またフジコにはナマコと同様に itin 硫酸が存在する外，carbohydrate と sulfur とよりなる酸性多糖類の存在を推定した。

終りに本研究に懇篤な指導を賜つた本学谷川英一教授，論文の校閲を賜つた東海区水産研究所石田正男先生に謹んで感謝の意を表する。

文　　献

1) E. TANIKAWA: *Memoirs of Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **3**, 74 (1955).
2) 真木正博・檜山　登: 弘前医学，**7**, 142 (1956).
3) K. SASAKI: *Tohoku J. Expl. Med.* **48**, 407 (1945).
4) S. OSAKI and K. TURUMI: *Tohoku J. Expl. Med.* **49**, 11 (1947).
5) L. A. ELSON and W. T. J. MORGAN: *Biochem. J.* **27**, 1824 (1933).
6) Z. DISCHE and L. B. SCHETTLES: *J. Biol. Chem.* **175**, 595 (1948).
7) A. FUJITA and D. IWATAKE: *Biochem. Z.* **242**, 43 (1932).

水産物の糖蛋白に関する研究—II.

フジコの poly-fucose 硫酸について

元広輝重

(1960 年 7 月 14 日受理)

STUDIES ON MUCOPROTEIN IN MARINE PRODUCTS—II. ISOLATION OF POLY-FUCOSE SULFATE FROM THE MUCOPROTEIN IN *CUCUMARIA JAPONICA*

Terushige MOTOHIRO*

The prosthetic group of the mucoproteins from *Cucumaria japonica* was split and freed from the protein moiety by the procedure shown in Fig. 1. The component sugar of the acid polysaccharide fraction (ppt. II) was examined paper-chromatographically (Table 1) and identified as L-fucose by obtaining L-fucose diphenylhydrazone and *p*-toluenesulfonylhydrazone. It was also found that the acid polysaccharide contains equimolar sulfuric acid and forms poly-L-fucose sulfate, just like that obtained from another sea cucumber, *Stichopus japonicus*, by HIYAMA et al. The ratio of acid polysaccharide to protein moiety was calculated approximately to be 5 : 1 (Table 2).

従来，下等動物の多糖類硫酸については左右田・江上[1]らが *Charonia lampas* より charonin 硫酸を，正宗[2]らが *Helix laeda* より limacoitin 硫酸を，真木・檜山[3]らが *Stichopus japonicus* より poly-fucose 硫酸を分離した報告がある。この中，charonin 硫酸は poly-glucose すなわち glucan の硫酸エステルとなつている。また，VASSEUR[4]らは棘皮動物卵のゼリー状物質に L-galactose または L-fucose あるいは両者を同時に構成糖成分とする多糖類硫酸エステルの存在を報告している。これらの報告によつて下等動物においては高等動物より分離される多糖類硫酸エステルがいわゆる itin 硫酸となつている点と異なり，その多糖類硫酸エステルは必らずしも hexosamine, hexuronic acid を構成糖成分としないことが判る。

著者は前報[5]においてフジコ (*Cucumaria japonica* SEMPER) より分離した糖蛋白の多糖類区分に carbohydrate : S = 1 : 1 の結合比をもつ多糖類硫酸の存在を推定した。本報ではこの多糖類硫酸をカリウム塩として分離し，その組成を検索したところ poly-fucose 硫酸であることを確認したので，その結果を報告する。

実験の部

1. 材料

フジコは 8 月根室近海で獲られ陸揚げ後，直ちに内臓を除去し，天日乾燥したものを用いた。

2. 糖蛋白の分離法

フジコより糖蛋白の分離は前報[5]に報告したように水抽出法によつた。すなわち 1 夜水中に浸漬し，水戻しを行つたフジコを細砕し，6 倍量の水を加えて Waring blendor によつて糊泥状となし，遠心沈澱 (4,000 r.p.m., 10 分間) を行つた上澄液を減圧濃縮しアルコールを加えて生ずる粘稠性沈澱を集め，粗糖蛋白を分離した。これを更に水に溶解し，5% 炭酸ソーダ液を加えて pH 8.4 とし，色素を除去した溶液を

* 北海道大学水産学部 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

2N 塩酸で pH 3.0 として生ずる沈澱を集め，乾燥して白色粉末の糖蛋白を得た。

3. 糖蛋白より多糖類硫酸の分離

フジコ糖蛋白より多糖類硫酸を分離するため，Fig. 1 のように処理し除蛋白を行つた。

mucoproteins (8g)
- dissolve in 100 cc of H_2O; adjust to pH 9.0 with 5% Na_2CO_3
- → residue | filtrate

filtrate
- adjust to pH 7.4 with 10% CH_3CO_2H, shake with 60 cc of a mixture of $CHCl_3$ and amylalcohol (3 : 1 by vol.) (Mixt. A)
- → residue (protein) | water layer

water layer
- adjust to pH 4.2 with 10% CH_3CO_2H; centrifuge (3,000 r.p.m., 10 mins.)
- → ppt. | supernatant

supernatant
- shake with 60 cc of Mixt. A
- → ppt. | water layer

water layer
- adjust to pH 7.0 with 5% Na_2CO_3, dialyze against distilled H_2O; add abs. EtOH, centrifuge
- → supernat. | ppt.

ppt.
- dissolve in 200 cc of H_2O; add 10 cc of CH_3CO_2H, 1g of KCl, add then 200 cc of abs. EtOH; centrifuge
- → supernat. | ppt. (I)

ppt. (I)
- dissolve in 200 cc of H_2O; add 10 cc of CH_3CO_2H and 10g of Kaolin; stir the mixture for 30 mins., filter
- → filtrate (I) | ppt. (II)

Fig. 1. Separation method of acid polysaccharide from the mucoproteins of *Cucumaria japonica*.

Fig. 1 において得られた沈澱（I）は Molisch 反応，Elson-Morgan 反応 (hexosamine), Naphthoresorcinol 反応 (hexuronic acid) の諸反応はいずれも陽性であり，このことから沈澱（I）にはなお itin 硫酸の存在することが判つた。沈澱（I）を更にカオリン処理して得られた沈澱（II）の区分にはカオリンとともに Elson-Morgan 反応 (hexosamine), Naphthoresorcinol 反応 (hexuronic acid) 陰性，Biuret 反応，Molisch 反応，水解性硫黄反応陽性物質が存在する。また沪液（I）は沈澱（I）と同様に上記各種反応も陽性であり，このことから沈澱（II）と沪液（I）には組成の異なる2種類の存在が推定される。沪液（I）については更に精製を繰り返し，結晶性 itin 硫酸が得られるが，この詳細については次報に報告する。

以上のように沈澱（II）には hexosamine, hexuronic acid についての定性反応は陰性であつたことから，この区分に itin 硫酸の存在は考えられず，したがつて前報で報告したような硫酸基を有する酸性多糖類の存在が推定される。また，この酸性多糖類は Biuret 反応陽性であることから蛋白と結合した状態で存在するものと考えられる。よつて Fig. 1 の操作によりフジコ糖蛋白を処理し，得られる沈澱（II）の区分の物質を試料とし，その化学的性質をしらべることとした。

4. Paper chromatography による多糖類組成の検索

前項で分離した沈澱（II）区分の多糖類の組成を検索するため試料 2.0g をとり 0.5N 硫酸 20cc を加え，還流冷却器を附し 100°C, 8 時間加水分解を行い加水分解液を paper chromatography で検索した。得られた結果は Table 1 に示すようであつて，沈澱（II）区分の多糖類は fucose を構成糖成分とし，他の糖成分のないことが明らかである。

Table 1. Paper chromatographic identification of component sugar of acid polysaccharide.

Solvent*	R_f 1	2	3
Sample	0.63	0.27	0.44
Fucose	0.62	0.27	0.42

* 1. Phenol saturated with 1% NH_4OH
2. Butanol : Acetic acid : H_2O=4 : 1 : 2
3. Collidine

5. L-fucose の同定

蛋白部を除去したもの（沈澱 II）1.5g に 1N 硫酸 100cc を加え沸騰水浴上に6時間加水分解し，バリタ水で硫酸を除き，減圧下に濃縮した後これにエタノールを加えて氷室に放置した。24 時間後に粗結晶 0.2g を得た。再結晶2回（収量0.1g），m.p. 145°C.

精製した結晶 0.1g にエタノール 10cc，diphenylhydrazine HCl 300mg，酢酸ソーダ 100mg を加えて 10 分間加熱した後放冷し，更に1夜氷室に放置後析出する結晶を集め，アルコール，エーテルで洗滌，乾燥した。このものは無色針状結晶で m.p. 198°C，N = 8.50（理論値 $C_{18}H_{22}O_4N_2$，N = 8.48%），$[\alpha]_D^{16} = -15.0°$ (pyridine). MUETHER and TOLLENS[6] による L-fucose diphenylhydrazone の結晶 (m.p. 200°C，$[\alpha]_D = -14.0°$) とよく一致する。

つぎに diphenylhydrazone 100mg をアルコール 5cc，水 0.5cc，benzaldehyde 0.1cc と3時間加熱し冷却後 benzaldehyde diphenylhydrazone を吸引沪過し，沪液を減圧下に濃縮してアルコールを除去し，水で稀釈した後エーテル抽出を行う。水層を再び減圧下に濃縮し，アルコールおよび *p*-toluenesulfonylhydrazine を加え，沸騰水浴上で 10 分間加熱し，1夜氷室に放置した。析出する無色針状結晶を沪別し 1.5 mg を得た。m.p. 174°C，N = 8.34%，$[\alpha]_D^{16} = -17.0°$ (pyridine). FREUDENBERG and BLÜMMEL[7] による L-fucose-*p*-toluenesulfonylhydrazine の結晶 (m.p. 174°C，N = 8.4%，$[\alpha]_D^{19} = -17.0°$) と一致した結果を示した。

以上の結果からフジコ糖蛋白の多糖類硫酸の構成糖は L-fucose であることが確認された。

6. 酸性多糖類の分析

前項までの実験によりフジコ糖蛋白中に存在する酸性多糖類は構成糖成分として L-fucose よりなることが判明した。ここで酸性多糖類の成分々析を行つた。

(i) 測定項目および方法

窒素は micro-Kjeldahl 法，炭水化物は Hagedorn-Jensen 法（fucose として計算），硫黄は重量法によつた。

(ii) 結　果

フジコ糖蛋白中の酸性多糖類〔沈澱（II）を精製し，カオリンを除いたもの〕の成分々析を行なつた結果を示せば Table 2 のようになる。

Table 2 には真木・檜山[3]らがナマコより分離した poly-fucose 硫酸について得た結果を比較のため示した。

Table 2. Analytical data of acid polysaccharide from *Cucumaria japonica*.

Component \ Sample	Acid polysaccharide in *Cucumaria japonica*	Poly-fucose sulfate in *Stichopus japonicus*[3]
Nitrogen (%)	2.5	1.2～ 3.5
Carbohydrate (%)	51.2	50.1～60.1
Sulfur (%)	9.2	8.8～14.0
Ash (%)	25.6	24.0～37.2

Table 2 の結果よりフジコ糖蛋白の多糖類では fucose : sulfur = 1 : 1 であり，fucose 残基1個に硫酸基1個が ester 結合しているものと考えられる。この結果は，真木・檜山[3]らがナマコより分離した poly-fucose 硫酸に対して得た値とほぼ一致している。Table 2 ではまたフジコについての窒素量はナマコの場合に比しやや少ない値を示しており，炭水化物と蛋白との結合比は 5 : 1 である。しかし真木・檜山[3]らはナマコの poly-fucose 硫酸についてその炭水化物の蛋白との結合比は 4 : 1～12 : 1 のように季節によりかなり異なつた割合で結合していると報告しており，したがつてフジコの場合でも常に炭水化物と蛋白が同一割合で結合しているか否かは今後検討を要すると思われる。

考　察

以上の実験結果よりフジコ糖蛋白中には L-fucose : S = 1 : 1 の結合比を有する酸性多糖類が存在し，この酸性多糖類は蛋白と 5 : 1 の割合で結合していることが明らかである。

前述のように poly-fucose 硫酸は真木・檜山[3]らがナマコより分離しており，またこのものは VASSEUR[4]らによつて棘皮動物類の卵被膜から分離されている。褐藻類の poly-fucose 硫酸は fucoidin として古くから知られ，この他多くの研究があり，これらの諸報告を綜合するに，poly-fucose 硫酸は海水中に生存する動植物体に含有される点から，これらの動植物体における特異的な生理的意義を有しているものと考えられる。

要　約

フジコ (*Cucumaria japonica* SEMPER) には一種の酸性多糖類が存在する。この酸性多糖類は L-fucose : S = 1 : 1 の結合比を有し，蛋白と 5 : 1 の割合で結合している。したがつてこの酸性多糖類は L-fucose 硫酸であろうと考えられる。酸性多糖類の成分々析結果は真木・檜山[3]らがナマコより分離した poly-fucose 硫酸とほぼ一致した。

終りに本研究に懇篤な指導を賜つた本学谷川英一教授，論文の校閲を賜つた東海区水産研究所石田正男先生に謹んで感謝の意を表する。

文　献

1) T. SODA and F. EGAMI: *Bull. Chem. Soc. Japan.* **13**, 652 (1938).
2) H. MASAMUNE, T. YASUOKA, M. TAKAHASHI and Y. ASAGI: *Tohoku J. Expl. Med.* **49**, 177 (1947).
3) 真木正博・檜山　登: 弘前医学, **7**, 142 (1956).
4) E. VASSEUR and J. IMMERS: *Ark. Kemi.* **1**, 253 (1949).
5) 元広輝重: 本誌, **26**, 1171–1174 (1960).
6) A. T. MUETHER and B. TOLLENS: *Ber. deuts. chem. Gas.* **37**, 808 (1940).
7) K. FREUDENBERG and F. BLÜMMEL: *Liebig's Ann.* **440**, 51 (1924).

水産物の糖蛋白に関する研究—III.
フジコの itin 硫酸の結晶化について

元 広 輝 重

(1960 年 7 月 14 日受理)

STUDIES ON MUCOPROTEIN IN MARINE PRODUCTS—III. CRYSTALLIZATION OF ITIN SULFATE FROM THE MUCOPROTEIN IN *CUCUMARIA JAPONICA*

Terushige MOTOHIRO*

Itin sulfate was successfully crystallized as the calcium salt from the mucoproteins of a sea cucumber, *Cucumaria japonica*, by the procedure shown in Fig. 1. The chemical composition of the crystalline itin sulfate was found to be quite similar to chondroitin sulfate prepared by the SCHUBERT method, being composed of each equimole of hexosamine, hexuronic acid and sulfur. The values of nitrogen and sulfur were however slightly higher in the former than in the latter (Table 1).

The component sugars of the compound were identified by paper chromatography as galactosamine and glucuronic acid (Table 2) and the compound bears similarity to the chondroitin sulfate.

Itin 硫酸は高等動物においては heparin[1), chondroitin 硫酸[2), mucoitin 硫酸[3), gastroitin 硫酸[4) が得られている。一方谷川[5) はナマコ (*Stichopus japonicus* SELENKA) に一種の itin 硫酸の存在を指摘し，真木・檜山[6) らは同じくナマコより mucoitin 硫酸を分離している。

実 験 の 部

著者は前報[7) においてフジコ (*Cucumaria japonica* SEMPER) 糖蛋白の配合簇多糖類に poly-fucose 硫酸の存在することを報告した。しかし，フジコにはこの外になお itin 硫酸の存在することが考えられ[8)，この点を究明するためフジコ糖蛋白から itin 硫酸の分離を試みてきた。ここで itin 硫酸を結晶状に分離することができたのでその結果を報告する。

従来の研究によれば硫酸基を有する複合多糖類の結晶は heparin[1), chondroitin 硫酸[2) についてのみ得られ，その他に itin 硫酸の結晶は得られていない。したがつて著者は本実験で得られた itin 硫酸の結晶の性質を調べるため，chondroitin 硫酸の結晶を調製し，これとも比較することとした。

1. フジコより糖蛋白の分離

糖蛋白を分離するために材料としては，根室近海で夏期に漁獲されたフジコの内臓を除去し，乾物としたものを用いた。一般に糖蛋白の分離には弱アルカリ，中性塩類溶液による抽出後，酸または有機溶媒により沈澱させる方法がとられているが，フジコより糖蛋白の分離，抽出には第 I 報の方法[7) によつた。すなわちフジコを Waring blendor によつて細砕し，水抽出を行い，残渣を除いた後アルコールによつて糖蛋白を沈澱せしめた。

* 北海道大学水産学部 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

2. itin 硫酸の分離

上記のフジコ糖蛋白より itin 硫酸を分離するため，フジコ糖蛋白を前報 Fig. 1[8]のように処理し除蛋白を行つた。

除蛋白後の沈澱〔前報 Fig. 1 の沈澱（I）〕は水に易溶，やや褐色に着色し，Molisch 反応，Elson-Morgan 反応 (hexosamine)，Naphthoresorcinol 反応 (hexuronic acid) の諸反応はいずれも陽性であつた。このものから itin 硫酸カルシウム塩を作るため Fig. 1 のように操作した。

polysaccharide moiety (20 g)

dissolve in 200 cc of H_2O add 30 cc of CH_3COOH, 2 g of $CaCl_2$
stir the mixture for 24 hrs, and add 200 cc of abs. EtOH
centrifuge (3,000 r.p.m., 10 mins.)

supernatant | precipitate

dissolve in 200 cc of H_2O add 10 cc of CH_3COOH and 10 g of Kaolin
stir the mixture for 30 mins., filter

precipitate | Filtrate

add 200 cc of abs. EtOH and 5 g of $CaCl_2$
centrifuge (3,000 r.p.m., 10 mins.)

precipitate (Frac. I) | supernatant

add 100 cc of abs. EtOH
stir 24 hrs., centrifuge (3,000 r.p.m., 5 mins.)

suparnatant | crystal (Frac. II) 100 mg.

Fig. 1. Crystallization method of itin sulfate from *Cucumaria japonica.*

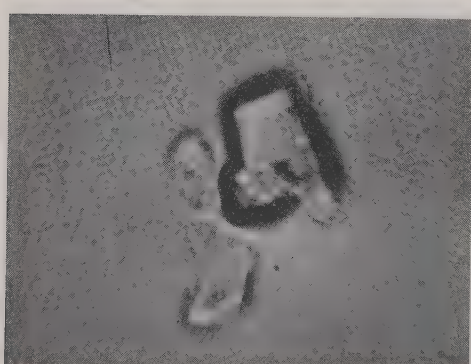


Fig. 2. Crystals of the Ca salt of itin sulfate from *Cucumaria japonica.*

ここに得られた結晶は Fig. 2 にみられるように板晶または柱晶をなしている。

Fig. 2 で Frac. I にも結晶性沈澱が得られるが，主として Frac. II に典型的な結晶形が得られる。また，Frac. II を除いた残液に更にアルコールを注加して Frac. III の得られる場合もある。Frac. III は Frac. II と結晶形の差異はなく Frac. II と同一のものと考えられる。Frac. I は再び水に溶解し，再結を反覆することにより Frac. II と同様な結晶形が得られる。このことから Frac. II における結晶が最も安定した結晶形であろうと考えられる。

Frac. II の結晶は水に易溶で水溶液は強い流動複屈折を示す。除蛋白劃分 20 g に対し 100 mg の収量で収率は 0.05% である。Elson-Morgan 反応，Naphthoresorcinol 反応，水解性硫黄の諸反応はいずれも陽性である。

3. itin 硫酸の組成

前項に示したような方法で得られた itin 硫酸カルシウム塩結晶の化学的性質を知るため構成分の定量を行つた。

hexosamine は Elson-Morgan の比色法[9]，hexuronic acid は Dische 法[10]，水解性硫黄は Osaki 法[11]により，試料を塩酸で加水分解後，遊離する硫酸基をバリウム塩として重量法により定量した。窒素は micro-Kjeldahl 法により，カルシウムは常法にしたがい蓚酸カルシウムを過マンガン酸カリにより滴定して求めた。

フジコの itin 硫酸カルシウム塩結晶および SCHUBERT[12] らの方法により調製した chondroitin 硫酸カ

ルシウムの組成の分析結果は Table 1 のようである。

Table 1. Analytical data on itin sulfate in *Cucumaria japonica*.

Component \ Sample	Itin sulfate in *Cucumaria japonica*	Calc.*	Molar ratio	Chondroitin sulfate	Calc.	Molar ratio
Hexosamine (%)	26.7	30.5	1.00	25.8	30.5	1.00
Hexuronic acid (%)	27.6	33.1	0.95	28.4	33.1	0.92
Sulfur (%)	5.9	5.45	1.23	4.41	5.45	0.96
Nitrogen (%)	3.3	2.39	1.58	2.47	2.39	1.22
Calcium (%)	6.2	6.81	1.03	5.44	6.81	0.95
Water (%)	15.8	15.3	5.88	14.6	15.3	5.15

* Calc. as $C_{14}H_{19}O_{14}NSCa \cdot 5H_2O$.

Table 1 の結果をみるに窒素，硫黄の値がフジコの itin 硫酸カルシウム塩結晶では多いようにみうけられる。このため試料を再び上記処理法にしたがつて結晶化を繰り返して定量を行つたが，窒素，硫黄量には変化が認められなかつた。また，蛋白反応でも陰性を示した。このことから，実験試料に供したフジコの itin 硫酸カルシウム結晶は他種蛋白を夾雑したものでなく，したがつて，このものの分析の結果得られた窒素，硫黄量は個有の値を示すものであることが推察される。

各組成分のモル比は hexosamine : hexuronic acid : S = 1 : 1 : 1 である。SCHUBERT らによる chondroitin 硫酸カルシウム結晶の分析結果と比較するに hexosamine, hexuronic acid, カルシウム量はそれぞれ大差ないが硫黄，窒素量はいずれもフジコの itin 硫酸カルシウム結晶ではそれぞれ 0.5%，0.8% 高い値を示した。これらの値は前述のように本実験に供したフジコの itin 硫酸カルシウムの個有値と考えられる。

hexosamine : hexuronic acid : S のモル比が SCHUBERT らの得た chondroitin 硫酸と同じく等モルに含有される事実からみれば，少くともフジコの itin 硫酸は chondroitin 硫酸と同様な化学的性状を有するものと考えられるが，この点については後報に詳述する。

4. itin 硫酸構成成分の検討

前項の実験よりフジコの itin 硫酸は hexosamine, hexuronic acid を等モルに含有することを知つたが本項ではこれらの構成分の種類がいかなるものであるかを知るため実験した結果をのべる。

(1) hexosamine, hexuronic acid の検索法

試料 0.5g を 100cc 容フラスコにとり，6N 塩酸 50cc を加え還流冷却器を附し，100°C, 20 時間加水分解を行つた後，2% 塩化バリウム溶液を加え，加水分解によつて生じた遊離硫酸を沈澱させてこれを除去し，残液を減圧下に濃縮して paper chromatography の試料とした。展開溶媒には 1% アンモニア水飽和フェノール，コリジン[13]を用い，顕色にはアニリン・フタル酸溶液[14]を噴霧し，出現する色斑によつて検出した。

(2) 結 果

フジコの itin 硫酸の hexosamine, hexuronic acid の種類を検索するために行なつた paper chromatography の結果は Table 2 に示した。

Table 2. R_f values of galactosamine and glucuronic acid.

Component	R_f	
	Collidine	Phenol saturated with 1% NH_4OH
Galactosamine	0.28	0.62
Glucuronic acid	0.16	0.13

Table 2 にみられるように hexosamine としては galactosamine, hexuronic acid としては glucuronic acid が検出された。この結果からみればフジコの itin 硫酸は構成糖成分として galactosamine, glucuronic acid を有する chondroitin 硫酸と近似の化合物と考えられる。

chondroitin 硫酸は D-glucuronic acid, N-acetylchondrosamine, 硫酸を構成分とし，これらが等モルの割合に含有されている[15]が，前項および本項の実験結果から推してフジコの itin 硫酸の構成糖成分も chondroitin 硫酸と同様であろうと考えられる。

考　　察

本実験ではアセチル基の検出，旋光度測定，構成糖成分の分離確認などは行わなかつたが，フジコより分離した itin 硫酸カルシウム塩結晶は chondroitin 硫酸または近似の化合物のように考えられる。

真木・檜山[6]によればナマコ内臓より分離した itin 硫酸は mucoitin 硫酸様のものであるといわれるが，元来 mucoitin 硫酸は N-acetyl-D-glucosamine, glucuronic acid およびエステル硫酸の当量より構成される多糖類硫酸エステルに対する名称であり，従来の報告では牛角膜[3]および豚胃粘膜ムチン[16]より分離されているに過ぎない。しかも，角膜の mucoitin 硫酸はその後再検討され，hyalonic acid に chondroitin 硫酸，kerato 硫酸が混在したものと考えられるに至つている。したがつて mucoitin 硫酸の存在は現在では疑問とされている。

一方，下等動物体から分離された itin 硫酸としては *Helix laeda* より分離された limacoitin 硫酸が報告されているに過ぎない。このようなことから真木・檜山[6]らのナマコから分離した itin 硫酸が果して mucoitin 硫酸であるか否かは再検討の必要があるものと思われる。

要　　約

フジコ (*Cucumaria japonica* SEMPER) より itin 硫酸をカルシウム塩として結晶状に分離し，その化学的性質をしらべた。その結果 galactosamine : glucuronic acid : S = 1 : 1 : 1 の割合で結合する一種の itin 硫酸であることを知つた。

終りに本研究に懇篤な指導を賜つた本学谷川英一教授，論文の校閲を賜つた東海区水産研究所石田正男先生に謹んで感謝の意を表する。

文　　献

1) A. F. CHARLES and D. A. SCOTT: *Trans. Roy. Soc. Can.* **28**, 55 (1935).
2) K. MEYER and M. M. RAPPORT: *Science* **113**, 596 (1951).
3) K. MEYER and E. CHAFFEE: *Am. J. Ophthalmol.* **23**, 1320 (1940).
4) R. SATOH: *Tohoku J. Expl. Med.* **56**, 387 (1952).
5) E. TANIKAWA: *Memoirs of Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **3**, 74 (1955).
6) 真木正博・檜山　登: 弘前医学 **7**, 150 (1956).
7) 元広輝重: 本誌, **26**, 1171-1174 (1960).
8) 元広輝重: 本誌, **26**, 1175-1178 (1960).
9) L. A. ELSON and W. T. J. MORGAN: *Biochem. J.* **27**, 1824 (1933).
10) Z. DISCHE and L. B. SCHETTLES: *J. Biol. Chem.* **175**, 595 (1948).
11) S. OSAKI and K. TURUMI: *Tohoku J. Expl. Med.* **49**, 11 (1947).
12) L. E. EINBINDER and M. SCHUBERT: *J. Biol. Chem.* **191**, 591 (1951).
13) 檜山　登・竹森繁晴: 弘前医学 **3**, 200 (1952).
14) S. M. PARTRIDGE: *Nature*, **163**, 177 (1949).
15) P. A. LEVENE: "Hexosamine and Mucoproteins". Longmans, Green and Co., London, (1922).
16) K. MEYER, E. M. SMYTH and J. W. PALMER: *J. Biol. Chem.* **119**, 73 (1937).

イオン交換樹脂 (Amberlite CG-50) による ヒスタミンの簡易定量法

河端俊治・内田 大・赤野多恵子

(1960 年 7 月 16 日受理)

A SIMPLE AND RAPID METHOD FOR THE DETERMINATION OF HISTAMINE IN FISH FLESH

Toshiharu KAWABATA, Yutaka UCHIDA and Taeko AKANO*

The method herein reported employes a cationic exchanger, Amberlite CG-50, type 1 (100 ~200 mesh) for separating histamine (Hm) from such interfering substances as histidine (Hd), tyrosine, tyramine, etc., in a trichloroacetic acid extract (TCA-extract) of fish flesh.

The outline of newly devised method by the authors is as follows:

A 10 ml portion of a TCA-extract is adjusted to pH 4.6 and added to top of a cationic exchanger column (8 × 55 mm; flow rate, 2~3 ml/min.; pH of the resin is pre-conditioned to pH 4.6 with 0.2 N acetate buffer).

The column is rinsed with 80 ml of 0.2 N acetate buffer at pH 4.6 and the Hm absorbed on the resin column is eluted with 8 ml of 0.2 N HCl. The reaction of the elute is adjusted to pH 7 and the volume is filled to 10 ml with distilled water.

A 2 ml aliquot of the elute is distributed in a colorimetric tube containing 5 ml of 1.1 N Na_2CO_3, coupled with 2 ml of Paury's diazo reagent, and the absorbance is determined at 510 mμ by a Coleman spectrophotometer.

The recovery of Hm by this method was 99 to 101%. The maximum exchangeable capacity for Hm of the column was 7,000γ with pure Hm 2HCl solution and 6,000γ with decomposed fish extract. The presence of Hd, tyrosine, or tyramine in TCA-extract did not influence the Hm value.

まえがき

魚介類の化学的鮮度測定法には古くから多くの方法が提唱されているが，何れも一長一短があり，現在のところ決定的な方法はないといつても差支えない。ヒスタミン (Hm) が鮮度判定の一つの指標として用いられるのは次の理由による。(1) Hm は新鮮な魚肉中には痕跡程度しか含まれず，その形成は主として細菌によるもので[1),2)]，鮮度低下とともに増加する。(2) 揮発性塩基や pH は缶詰食品のような場合には加熱処理によつてかなり変化し，原料魚の鮮度とは必らずしも一致しないこともあるが，Hm は加熱によつて増減することはない。Hm はその母体ヒスチジン (Hd) が脱炭酸して生成されるので，一般に Hd 含量の多い赤身の魚種では鮮度低下につれて多量に形成されるが，白身の魚種では生成量は極めて少く，その量は鮮度と一致しないのが欠点である。ところで赤身の魚種によりしばしばアレルギー様食中毒[3)]が起り，その原因物質には Hm や未知のヒスタミン様物質（サウリンのごとき）がある。このような有毒物質の異常蓄積のときには魚は特殊な鮮度低下形式をとり[2)]，アンモニア-N やトリメチルアミン-N は正常値の範囲であり，かつ臭気その他でも異常は認められない。従つて Hm の測定や全迷走神経刺戟物質の定量は食品衛生上からは重要な意味をもつてくる。

* 国立予防衛生研究所　食品衛生部 (Department of Food Control, National Institute of Health, Tokyo, Japan).

従来から Hm の定量方法には Bioassay[4], 沪紙クロマトグラフイー[5], Eggerth 法[6], 大田法[7] があり, また陽イオン交換物質 (cotton acid succinate) の Hm に対する選択性を別用した Mc Intire-門田法[8] や大田法を改良した富山法[9] 等がある。これらの中にはすぐれた方法もあるが, なかには定量誤差の大きいものもあり, 全般的に簡易性という点では更に改良, 工夫の余地がある。

著者らは今回 Amberlite CG-50 (type 1) を用いる Hm の簡易定量法を考案し, 種々検討の結果, この方法は簡易であり, かつ精度も良いことが判つたので, ここに報告する。

定 量 方 法

1. 試 薬

a) Hm 標準液: Hm-2HCl (和光純薬製) 165.61 mg を蒸留水に溶かして 100 ml とする。この溶液は Hm (遊離) として 1 mg/ml に相当する。b) 2N 酢酸緩衝液: 120 g の氷酢酸 (特級) と 40 g の水酸化ナトリウム (特級) を蒸留水に溶かして 1 l とする。(pH 4.6)。c) 0.4 N 酢酸緩衝液 (pH 4.6): 2N 酢酸緩衝液を5倍にうすめて使用。d) 0.2 N 酢酸緩衝液 (pH 4.6): 2N 酢酸緩衝液を 10 倍にうすめる。e) 0.2 N 塩酸 (特級)。f) 1.5 N 炭酸ナトリウム溶液 (特級)。g) 1.1 N 炭酸ナトリウム溶液 (特級)。h) 5% 亜硝酸ナトリウム溶液 (特級)。i) 0.9% スルファニル酸溶液: スルファニル酸 (特級) 0.9g を 10% 塩酸にとかし 100 ml とする。j) 10% トリクロル酢酸 (TCA): 除蛋白用。k) 10% 水酸化ナトリウム溶液 (特級)。

2. イオン交換樹脂柱の調製

a) 樹脂の準備: Amberlite CG-50 (type 1), 100～200 メッシュの樹脂をビーカー中にとり, 約5倍量の 1N 塩酸を加えて 10～20 分間かきまぜ, 静置後上清を捨てる。この操作を 2～3 回反覆し, 樹脂の洗浄とともに十分に〔H〕型にする。(ただし一旦使用した樹脂を再使用するには, 予めアセトンで脱脂し, 次に 2N 塩酸で十分処理する)。次に蒸留水で遊離の塩酸が十分に除去されるまで洗浄し, 0.2 N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) 処理を行い, 樹脂の pH が 4.6 に至つたなら, 共栓ビン中に移して保存する。b) カラムは Fig. 1 に示したもので下端にガラス綿をつめ, ついで活性化した樹脂を高さ 5.5 cm (約 2 ml) につめ, 0.2 N 酢酸緩衝液を流して均一に沈下させる。液の流下速度は 2～3 ml/min. になるようガラス綿の固さを調節する。またカラム中の気泡は完全に除かねばならない。

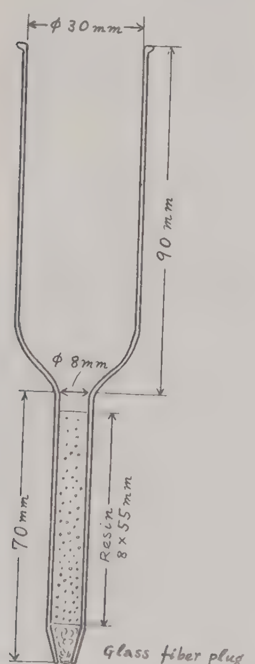


Fig. 1. An Amberlite CG-50 Column for the Separation of Histamine.

3. 定量操作

a) 魚肉抽出液の作製: 細切した魚肉 10g を乳鉢中にとり少量の石英砂とともに十分すりつぶし, 蒸留水 20 ml を加えよく混和する。次いで 10% TCA 20 ml を加えて混和後 10 分間放置し, 乾燥沪紙 (No. 5A) を用いて沪過する。(魚肉水分 80% のときこの沪液 1 ml は肉 1/4.8g に相当する)。b) イオン交換樹脂カラムによる Hm の分離: 魚肉 TCA 抽出液 10 ml を 30～50 ml 容ビーカーにとり, これに 10% 水酸化ナトリウムを滴下して pH を 4.5～7 にし, 10 ml の 0.4 N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) を加えて混合し, カラムに注入する。つぎに 80 ml の 0.2 N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) をカラムに通過させるが, その一部で試料を入れたビーカーを洗浄し, カラム中に洗液を移す。

樹脂に吸着された Hm は 8 ml の 0.2 N 塩酸で溶離する。溶離液は 1.5 N 炭酸ナトリウム溶液を滴下して pH を7にし, 水を加えて 10 ml の定容とする。この溶液は Hm の濃度により比色に際して適

宜稀釈をする。(比色測定範囲は 2～25γ の Hm)。c) 標準曲線: 標準 Hm 溶液を蒸留水で稀釈し, 最終的に 5% になるよう TCA を加え, 1～30γ/ml の Hm 稀釈液を作る。各々を 10% 水酸化ナトリウムで中和し, b) の分離法に従つて Hm をカラムに吸着, 溶出する。この溶出液を次の d) に示した方法で発色させ, Coleman 光電比色計を用い 510 mμ で吸光度を測定し, 標準曲線を作成する。(なお標準曲線の作成に当つて Hm 溶液 (5% TCA に溶解) をカラムに通過させる操作を省略しても全く同一の標準曲線が得られたので, 実用的にはカラム通過の段階を省略しても差支えないであろう)。 d) Hm の発色: 比色管 (径 18 mm, 長さ 180 mm の試験管型) に 1.1 N 炭酸ナトリウム溶液 5 ml を加えておく。他方, 氷浴中にてスルファニル酸を亜硝酸ナトリウム溶液の等量を混合してジアゾ試液を調製し, これを 20～30 分後に使用する。炭酸ナトリウム溶液を入れた比色管に 2 ml のジアゾ試液を静かに注加し, 1 分後に検液し (c) で示した pH 7 に調整した溶解液) 2 ml を加えて, 激しく振り混ぜる。検液を加えて 5 分後に 510 mμ の波長で吸光度を測定する。同時に検液の代りに蒸留水を用いて盲験を行ない, 盲験値を測定値から差引く。 e) 計算: 標準曲線から検液の吸光度に相当する Hm 値を求める。これに稀釈倍数を乗じて Hm 含有量を算出する。f) 別法: c) 以下に記載したジアゾ試液を用いる Hm の化学的定量法の代りに生物学的方法で Hm を求めてもよい。すなわち b) で作成した溶離液を適宜稀釈し, モルモット摘出腸管を用いる Magnus 法で定量する。この際には栄養槽中に酸素の代りに空気を通ずれば操作は更に簡易化される[10]。Hm の定量は標準 Hm (1～2γ) の収縮程度と検液による収縮程度を比較する。(ただし生物学的測定法では通常 5% 内外の誤差を伴なう)。

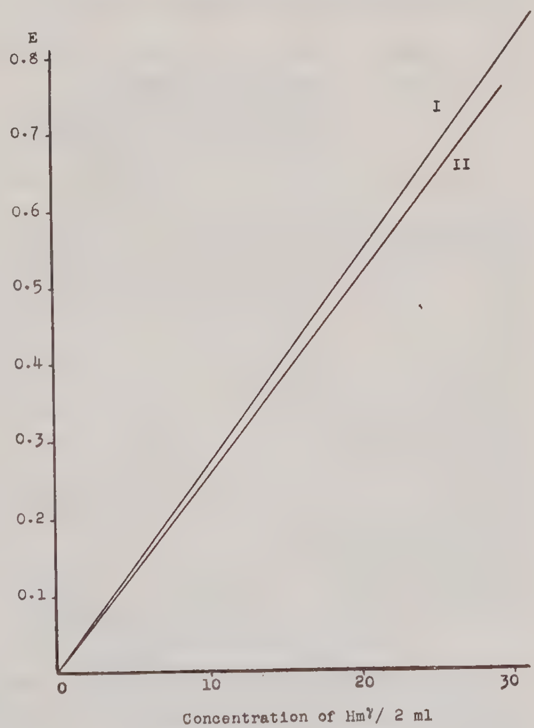
定量方法の検討

1. 標準曲に関する検討

蒸留水にて稀釈して作成した Hm の稀釈液 (1～30γ/ml) と 5% TCA に溶解し 10% 水酸化ナトリウムで中和した Hm の稀釈液 (1～30γ/ml) を作成し, その各々 2 ml を用い前記定量操作 d) と同様ジアゾ反応によつて 510 mμ の波長で Hm の比色定量を行なつた。

得られた結果は Fig. 2 の通りで, 中和した Hm-TCA 溶液では曲線 I, 中和しない Hm では曲線 II が得られた。すなわち I は II よりも傾きが大であつたことから, 中和したときの方が呈色度が高かつた。つぎに 5% TCA に溶解した Hm を pH 4.6 に反応を修正後, カラムに吸着させ, 0.2 N 塩酸で溶解後, pH を 7 に調整し, それについて同様の標準曲線を作成したが, 得られた曲線は I と全く一致した。

従つて, 本法における標準曲線は既知量の Hm-TCA 溶液を Amberlite CG-50 カラムに吸着, 流出させて求める代りに, 5% TCA に溶解した Hm を予め中和し, 発色させて求めても実用的には差支えないことが判つた。なお比色定量の誤差は ±1.6% 以内であつ



Curve I ; Hm in TCA solution was separated by the ion-exchanger technique and the elute was neutralized.
Curve II ; Hm-HCl, un-neutralized.

Fig. 2. Standard Curves of Histamine measured by a Coleman Spectrophotometer at 510 mμ.

た。

2. 樹脂活性化の pH および洗浄液の pH と Hm の吸着量

Hm の吸着量は樹脂柱の処理 pH によつて異なり，また魚肉中に存在する Hd などシアゾ反応陽性物質の吸着及び除去には洗浄液の pH が関係するので，ここでは樹脂の処理及び洗浄液の pH について検討を行なつた。

実験方法： 樹脂 (Amberlite CG-50, type 1, 100～200 メッシュ) を pH 4.2 から 5.0 まで 0.2 間隔の差を設けた 0.2N 酢酸緩衝液で活性化してカラムを作成した。試料は 0.2N 酢酸緩衝液に溶かした標準 Hm 溶液，Hd 溶液および市販新鮮サバ肉 TCA 抽出液と，これに既知量の Hm を加えたもの，さらに腐敗させたサンマ肉の TCA 抽出液を使用した。試料をカラムに注入後に使用した洗浄液はそれぞれの樹脂の活性化に使用したと同一 pH の 0.2N 酢酸緩衝液各 80 ml を用いた。定量操作は前記の方法に従つた。

実験結果： 得られた結果は Table 1 に示した。すなわち pH 4.6 では標準 Hm 溶液の回収率は 95.8% であり，この回収率は Fig. 2 に示した曲線Ⅱ（予め中和しない Hm 溶液）とほぼ一致したが，pH 4.4 より酸性では Hm の流出が著しかつた。またサバ肉の TCA 抽出液に 60.4γ の Hm を加えたときの回収率は pH 4.6 以上ではほぼ 100% となつた。Hd の吸着は pH 4.6 以下では無視できる程度であるが，pH 4.8 以上では吸着量が増加する傾向が認められた。特に腐敗サンマ TCA 抽出液の分析値から判るように pH 4.8 以上では判定値が増加する。これは Hm 以外のジアゾ反応陽性物質の吸着が増加したためと思われる。

以上の結果からみて樹脂の活性化並びに洗浄液の pH は 4.6 が最も妥当であろう。

Table 1. Effect of Conditioning of the Resin and the pH of Effluent upon the Recovery of Histamine.

Size of a column; 8×55 mm (ca. 2 ml)
Flow rate; 2～3 ml/min.

Samples analyzed	pH value of resin column and that of effluent									
	pH 4.2		pH 4.4		pH 4.6		pH 4.8		pH 5.0	
	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)
Hm; 60.4γ	36.5	60.4	51.0	84.5	58.0	95.8	59.0	97.3	59.0	97.3
Hd; 7,400γ	0.9	—	1.8	—	1.8	—	2.9	—	4.2	—
TCA-extract of fresh mackerel flesh	4.7	—	5.7	—	5.9	—	9.6	—	12.8	—
〃 +Hm, 60.4γ	43.5	64.1	56.0	86.7	66.0	99.7	70.0	99.9	73.5	100
TCA-extract of decomposed saury flesh	5,700	—	7,200	—	7,400	—	7,750	—	8,100	—

Note: Treatment of the resin (Amberlite CG-50, type 1, 100～200 mesh) and rinsing of the column were carried out with 0.2N acetate buffer of varying pHs.

3. カラムの洗浄に用いる 0.2N 酢酸緩衝液量と Hm および Hd の吸着量の関係

魚肉 TCA 抽出液中に存在する Hd 始め他のジアゾ反応陽性物質（定量妨害物質）除去のためカラムの洗浄に要する 0.2N 酢酸緩衝液量を検討した。

実験方法： 試料として Hm は 60.4γ, 30.2γ, Hd は 7,400γ および Hm と Hd の混合液 (Hm 60.4γ, Hd 7,400γ; Hm 30.2γ, Hd 7,400γ) をそれぞれカラムに注入し，40 ml から 100 ml までの量の 0.2N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) によつてカラムを洗浄し，Hm および Hd の吸着量を検討した。

実験結果： Table 2 に示したように，洗浄液量を 40 ml から 100 ml に増加しても Hm の流出は認め

Table 2. Effect of the Volume of Effluent upon the Recovery of Histamine.

Size of a column; 8×55 mm (ca. 2 ml)
Effluent; 0.2 N acetate buffer of pH 4.6
Flow rate; 2～3 ml/min.

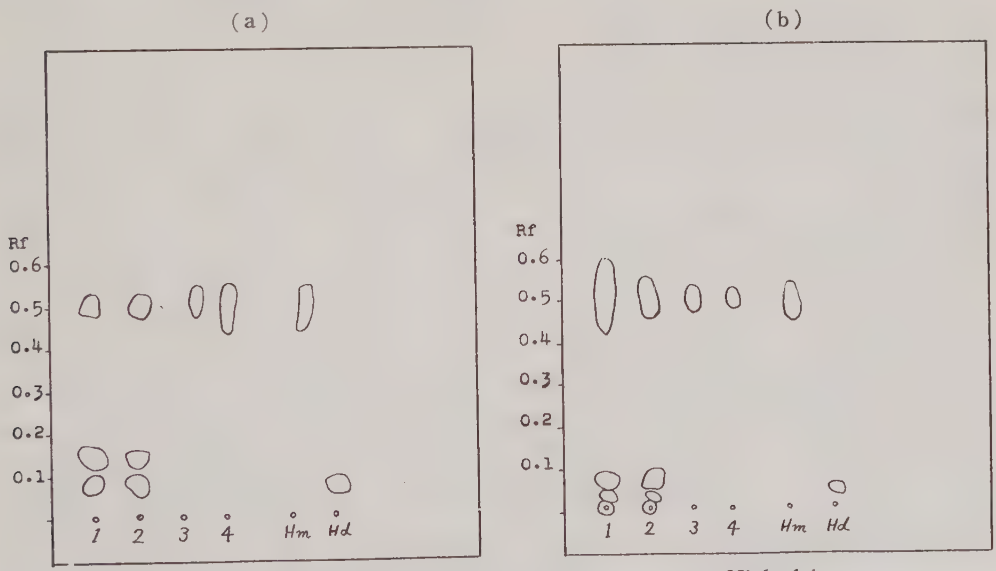
Samples	Volume of effluent: 40 ml		60 ml		80 ml		100 ml	
	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)
Hm; 60.4γ	57.0	94.5	—	—	57.5	94.8	57.5	94.8
Hm; 30.2γ	28.6	94.7	—	—	—	—	28.7	95.1
Hd; 7,400γ	54.0	—	2.8	—	1.2	—	1.2	—
Hm, 60.4γ+ Hd, 7,400γ	111	184* 94.5**	—	—	58.0	94.3	58.5	95.1
Hm, 30.2γ+ Hd, 7,400γ	82.5	274* 95.2**	31.2	104* 95.1**	30.1	95.8	29.9	95.5

Note: *; the figure includes Hd value. **; the figure excludes Hd value.

られず，Hm の水溶液についての回収率は 94～96% であつた。(この場合溶出液の pH の修正は行なわなかつた)。これは Table 1 の結果をよく一致する。一方 Hd を十分に除去するには洗浄液量 60 ml 以下では不足で 80 ml 以上で一定の低い値を得ることができた。

4. Hm, Hd 以外のジアゾ反応陽性物質の影響

新鮮魚肉中には Hd 以外にチロシンなどのようなジアゾ反応陽性物質が存在しており，腐敗に伴いチラミン，Hm，イミダゾール酢酸などのジアゾ反応陽性物質が形成される。



Diazo reagent　　　　Ninhydrin

Developing solvent; *n*-butanot saturated with 10% ammonium hydroxide.
Samples: 1 and 2; original TCA-extract, 3 and 4; elute of the Amberlite column (Hm fraction), Hm; standard Hm solution (0.01 ml of 500γ/ml), Hd; standard Hd solution (0.01 ml of 1,000γ/ml).

Fig. 3. Paperchromatograms of the Original TCA-extract and the Elute of Ion-exchanger Column of the Saury Flesh inoculated with *Proteus morganii*.

まずチロシン，チラミンの影響を知るため，*l*-tyrosine, tyramine-HCl（ともに和光純薬製）のそれぞれ 1,000γ/ml の水溶液 10 ml づつをカラムに注入し，吸着の程度を調べたが，両者とも全く吸着されなかつた。

つぎに腐敗に伴い生成されるアンモニアおよびトリメチルアミンの影響を知るため，$(NH_4)_2SO_4$ の 200γ/ml および TMA-HCl の 200γ/ml の水溶液各 10 ml をカラムに注入し，0.2 N 塩酸溶解液についてジアゾ反応により比色を行なつたが，0.3γ/ml，Hm 相当の発色を示した。この程度は実験誤差の範囲内であつて，実用的には無視できる。

つぎにサンマ肉に *Proteus morganii* を接種，培養後，TCA 抽出液を作成し，カラムを通過させ，前記方法に従つて 80 ml の 0.2 N 酢酸緩衝液で洗浄後，8 ml の 0.2 N 塩酸で溶離し，中和後 10 ml の定容とした。原 TCA 抽出液とカラム溶離液について，アンモニア性ブタノール（10% アンモニア水飽和 *n*-ブタノール液）を溶媒として一次元ペーパークロマトグラフィーを行ない，ニンヒドリンおよびジアゾ試液にて発色させた。得られたクロマトグラムは Fig. 3-a, b に示してある。なお対照に Hm および Hd を同様に展開発色させた。

これらのクロマトグラムから判るように，カラム溶液中に含まれるジアゾ反応陽性物質は Hm 以外に認められなかつた。

5. 新鮮魚肉の TCA 抽出液に加えた Hm の回収率

市販の新鮮なサンマ肉を用いて TCA 抽出液を作成し，その 10 ml ずつに既知量（15.2γ および 60.4γ）の Hm を加えて本法による回収率を測定した。なお洗浄液量が 80 ml と 100 ml の場合について実験を2回行なつた。

得られた結果は Table 3 に示してあるが，回収率は 99～101% という結果が得られた。

Hm を 5% TCA にて稀釈し，pH を 4.6 に修正した液を，樹脂に吸着，溶離した場合の回収曲線は Fig. 2 における中和後発色させた標準曲線 I と全く一致した。この事実は Amberlite CG-50 カラムによる Hm の定量には魚肉 TCA 抽出液を用いた方が都合がよいことを示すもので，また実用的にもこの試料作成法は便利である。

Table 3. Recovery of Histamine added to the TCA-extract of Fresh Saury (*Cololabis saira*) Muscle.

Volume of rinsing solution	Hm added (γ)	Hm found (γ)	Hm recovered (γ)	Recovery of Hm (%)
80 ml	0	9.6	—	—
	15.2	24.6	15.0	99.0
	60.4	70.5	60.9	101
100 ml	0	9.5	—	—
	15.2	24.6	15.1	99.5
	60.4	69.5	60.0	99.4

Table 3 に示したように新鮮なサバ肉抽出液中には 0.96γ/ml（0.46 mg%）の Hm が含まれている結果が得られたが，同抽出液をモルモット摘出腸管を用いる Magnns 法で定量したところ，Hm としては痕跡程度であつた。なおカラム溶解液に既知量の Hm を加え Magnus 法で Hm の定量を行なつたが殆んど完全に回収されたので，カラム溶離液中には Magnus 法で定量を阻害する物質が含まれているとは考えられない。従つて新鮮魚肉中に含まれ，本法で Hm とともに出てくる極めて僅かのジアゾ反応陽性物質については今後の研究にまたねばならない，ただし実際上魚類の鮮度判定やアレルギー様食中毒原因究明に当つては問題にならない程度の値である。

また上記魚肉 TCA 抽出液中の Hm 以外の物質による定量値に関して cotton acid succinate (C. S.) 法と本法の比較を行なうため，新鮮サバ肉 TCA 抽出液およびこれに既知量の Hm を添加した液について門田法[8] で測定したところ，TCA が存在すると Hm は全く *n*-ブタノール層に移行せず，TCA 抽出液では C. S. 法を適用できないことが判明した。

6. カラムの Hm 交換容量

Fig. 1 に示したようにカラムには Amberlite CG-50 が 2 ml つめられているが，その Hm に対する交

換容量を知るため，まず Hm の 5% TCA 溶液について検討を行なつた。すなわち供試液量 10 ml，流速 2～3 ml/min. と条件を一定にして，Hm を 1,000γ から 10,000γ までカラムに注入してその回収率を測定した。

結果は Table 4 に示したように Hm 7,000γ までは 99～107% という回収率を示し，10,000γ では 72.4% という値を示した。これらの結果から供試カラムの Hm-2HCl に対する交換容量は約 7,000γ である。

Table 4. Exchangeable Capacity of the Resin Column.
Size of a column; 8×55 mm (ca. 2 ml)
Flow rate; 2～3 ml/min.
Effluent; 0.2 N acetate buffer of pH 4.6

Amount of Hm added to a column	Hm found (γ)	Recovery of Hm (%)
1,000	1,040	104
2,000	2,130	106
3,000	2,970	99.0
4,000	4,270	107
5,000	5,085	102
6,000	6,020	100
7,000	7,050	101
10,000	7,240	72.4

つぎに腐敗アンマ TCA 抽出液に既知量の Hm を加えたものについて交換容量の検討を行なつたところ，6,000γ までは 100% の回収率を示したが，それ以上では樹脂が飽和することが判つた。これは Hm 以外の塩基物質（ジアゾ反応陰性のものも含む）の共存するために交換容量が低下したのであろう。従つて魚肉試料については Hm の交換容量は約 6,000γ とするのが妥当であろう。

しかしながら交換容量は樹脂性の大きさ，クロス・リンケージによつても異るし，流下速度が大になれば Hm の流出も起り得るので，Hm の定量にはできるだけ条件を一定で行なわなければならない。(筆者らの経験では 2～3 ml/min. が最も適当であつた。)

7. 本法と C. S. 法，Magnus 法との比較

種々の鮮度のサバ肉を用い本法と Mc Intire-門田の C. S. 法[8]，モルモット摘出腸管を用いる Magnus 法について Hm 定量値の比較を行なつた。

実験方法: 市販の新鮮サバ肉 100g に対し滅菌蒸留水 400 ml を加えブレンダーにかけた。このうち，200 ml を滅菌ルー・フラスコに入れ対照とし，残部を別のルー・フラスコに移し *Proteus morganii* #73 株を接種し，20～21°C で放置した。この間フラスコ中の魚肉懸濁液の一部を一定時間ごとに採取し，種々の鮮度の魚肉について TCA 抽出液およびメタノール抽出液を作成した。すなわち TCA 抽出液は懸濁液 20g に 10% TCA 20 ml を加えて攪拌し，10 分後沪過した（この沪液 1 ml は魚肉 0.1 g に相当する)。メタノール抽出液は懸濁液 10g に 4 倍量のメタノール（1 級）を加えて時々かきまぜ，一夜放置後，翌日上澄液を沪過するとともに残留物を 2 回 80% メタノールで洗浄，抽出を繰返し，沪液と合せて湯浴上でメタノールを留去した。得られたシロップ状の残留物はエーテルで脱脂し，水に溶解して 10 ml の定容とした（この抽出液 1 ml は魚肉 0.2g に相当する)。

上記作成した TCA 抽出液については本法で，メタノール抽出液について C. S. 法および Magnus 法*で測定し，結果は何れも Hm 相当量として比較を行なつた。なお Hm の定量に先立つて各抽出液についてアンモニア水飽和ブタノール液を展開剤として一次元ペーパークロマトグラフィーを行ない，Hm の生成の確認を行なうとともに Hm 以外の迫走神経刺戟物質の存在を調べたが，何れのクロマトグラムの部分についても陰性の結果を示した。

実験結果: 得られた結果は Table 5 に示したが，*Proteus morganii* 接種群，対照ともに本法と Magnus 法（測定誤差 ±5%）とはほぼ一致した値を示したのに対し，C. S. 法では 0 日目および対照の 1，2 日目に採取した試料では本法や Magnus 法より過大値を示した。

この原因は C. S. が Hd に対して吸着能をもつているためと考えられ，このことは次の実験から明らかに

* メタノール抽出物の Magnus 法による値は Hm のみでなく，すべての迷走神経刺戟物質による収縮能が Hm として示される。供試 *P. morganii* #73 株は分離当時は Hm のほか Saurine（未知迷走神経毒)[2]を形成したが，継代培養中に変異を起したらしく，現在では Hm のみを生成するようになつた。その事実は今回の実験でもペーパークロマトグラフィーで明らかになつた。

Table 5. Comparison of Amounts of Histamine determined by the Present Method and Other Techniques

Materials examined; TCA-extracts of inoculated and uninoculated mackerel flesh suspension with *Proteus morganii* # 71.

days / Method	Uninoculated suspension (control)			Inoculated suspension		
	0	1	2	0	1	2
Present	0.38	0.21	50.8	0.38	330	405
C. S.	18.7	26.5	58.5	18.7	245*	299*
Magnus**	0.05	0.24	45.8	0.05	333	376
Freshness						
odor	normal	fishy	putrid	normal	normal	normal
NH_3-N (mg%)	18.6	25.6	83.2	18.6	17.2	19.0
pH	5.96	6.02	6.75	5.96	6.63	7.25

Note: 1) Results of histamine are shown in mg% of original flesh.
2) * ; experimental error caused by an over-exchange capacity of C.S. column.
3) **; a strip of guinea pig intestine was used and the method included about 5% of error.

なつた。

使用した C.S. は和光純薬および小宗化学に依頼して作製したもので，実施法は正確に門田法に従つた。ただし Hm, Hd の比色は本法に記載したジアゾ反応で Coleman 比色計を用い 510 mμ にて吸光度を測定し，Fig. 1 に示した標準曲線 II を使用した。実験結果によると 2 種の C.S. は Hd 3,330γ に対して 224γ Hm 相当量の吸着を示した (6.7%)。この吸着される Hd は，C. S. カラムの洗浄に用いる水およびエタノールをそれぞれ 20 ml まで増加しても吸着量を減少させることができなかつた。

つぎに C.S. 法に対するチロシン，チラミンの影響を調べてみると，チロシンは全く影響しないが，チラミンは 4,500γ に対し 463γ Hm 相当量 (10.3%) が吸着され，これらの物質が，共存する試料では当然過大値の原因となりうる。

これらの事実から C. S. 法は魚肉のように Hd やチラミンの共存する試料には不適当といわねばならない。(なお C.S. カラムの溶離液を Magnus 法で測定すれば，Hd やチラミンなどの影響を殆んど受けないで済む。しかしモルモット腸管は Hd の量が多くなると腸管が弛緩して Hm 定量の誤差を招くおそれがある)

要　　約

1. Amberlite CG-50 (type 1, 100～200 メッシュ) を用いる Hm 簡易定量法を考案した。

2. 本法の概要は魚肉 TCA 抽出液を予め pH 4.6 に修正し，その一定量を 0.2 N 酢酸緩衝液で pH 4.6 に調整した樹脂カラム (8×55 mm) に通過させ，さらに 80 ml の 0.2 N 酢酸緩衝液 (pH 4.6) をカラムに通過させる。次いで吸着された Hm は 8 ml の 0.2 N 塩酸にて溶離し，pH をほぼ 7 に修正した後 10 ml の定容とする。

溶離液中の Hm はジアゾ反応により比色定量するが，モルモット摘出腸管を用いる Magnus 法で行なう。

3. 本法は魚肉中に含まれる Hd やチロシン，その分解産物であるチラミンの影響を受けない。またアンモニアやトリメチルアミンも本法による定量の妨害とならない。

4. 本法で使用するカラムの Hm に対する交換容量は Hm-2HCl では約 7,000γ，魚肉抽出液では約 6,000γ

であり，回収率は 100 ± 1% である。

本研究は昭和 35 年度厚生科学研究費によつて実施した。ここに記して謝意を表わす。

文　　献

1) M. Kimata and M. Tanaka: Memoirs of Res. Inst. Food Sci., Kyoto Univ., **2**, 12 (1954).
2) 河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚: 本誌, **22**, 41 (1956).
3) 河端俊治・石坂公成・三浦利之: 本誌, **21**, 335 (1955); **21**, 341 (1955); **21**, 347 (1955); **21**, (1167).
4) R. M. Gesler and M. Matsuba: J. Pharmcol. Exptl. Therap., **114**, 151 (1955).
5) 門田　元・林　孝一郎: 京大食糧科研報, **6**, 30 (1951).
6) A. H. Eggerth, R. J. Littwin and J. V. Deutsch: J. Bact., **37**, 187 (1939).
7) 大田冬雄: 本誌, **24**, 41 (1959).
8) 門田　元・井上淳太郎: 本誌, **19**, 916 (1953).
9) 津田　厚・富山哲夫: 本誌, **25**, 451 (1959).
10) 河端俊治・鈴木　茂: 本誌, **25**, 473 (1959).

魚類筋肉内燐化合物の生理化学的研究—II.
燐化合物含量の個体差および部位差

中　野　智　夫

(1960 年 7 月 25 日受理)

STUDIES ON THE PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY OF PHOSPHORUS COMPOUNDS IN FISH MUSCLE—II.
ON THE INDIVIDUAL AND REGIONAL VARIATIONS OF PHOSPHORUS COMPOUNDS CONTENTS IN FISH MUSCLE

Tomoo NAKANO*

In the previous report, the author pointed out that the contents of various phosphorus compounds in fish muscle showed such wide individual variations that it was very difficult to compare their contents among several fish species with each other.

The present report deals with, by using gibel and mackerel, a special reference to whether the individual variations are caused by the difference among the innate characteristics of each fish or among the acquired factors such as environmental conditions and killing methods.

The results are shown in Tables 1, 2, 3 and 4, and summarized as follows;

1) The innate individual variations of the phosphorus compound content in the same species were so small that it is concluded that the great variations found in the previous report were mostly due to the acquired factors.

2) The phosphorus compound content in muscle varied slightly but significantly according to the locality and kind of muscle, such as ordinary and dark muscles. Therefore it was pointed out that specimens must be carefully prepared.

3) The values of XP/TP in the Tables clearly indicate that the ratio of organic phosphorus compounds in muscle is higher in mackerel than in gibel, and this fact suggests that there is a difference in muscular function between these two fishes.

前報[1]において著者および土屋は種々の魚類筋肉内の燐化合物含量を測定し，その含量に著しい個体差および部位差のあることを指摘した。特に同一魚種においてもその個体差が著しく，魚種間の含量差を比較することが困難である。そこで本報においては，以後の研究において主として用いるフナおよびサバを試料として上述した個体差および部位差がそれぞれの魚種に特有なものかあるいは環境や飼育条件の違いならびに採肉前の取扱い方法の差等によって生じたものであるか否かを確かめるために数種の試料について分析を行いこれに検討を加えた。

本研究を行うにあたり，終始御懇篤なる御指導をいただいた東北大学農学部土屋靖彦教授に記して厚く御礼申し上げる。

実験材料および方法

実験材料: フナは同一飼育池から得たものを東北大学農学部の飼育池で更に数日間飼育した。
サバは東北大学農学部所属の女川水産研究実験所において，釣獲によって獲たものを水槽飼育して試料とした。

* 聖霊女子短期大学家政学研究室 (Department of Home Economics, Holy Ghost Junior College).

実験方法: 試料魚はいづれも同一水槽に餌を充分与えて飼育したものである。餌としてはフナにはイトミミズを，サバにはカタクチイワシを与えた。また致死および採肉に当つては試料取扱いの上で個体的な差のないよう，できるだけ迅速にかつ同室温下で行なつた。

燐化合物の抽出および定量方法は前報[1] と同じである。ただし，本報以後の研究においては，TP は三塩化醋酸抽出部分の総燐量を表わしており，RP は TP-(IP+CP+7′P) を示している。なお略号は TP: Total Phosphorus, IP: Inorganic Phosphorus, CP: Creatin phosphate-Phosphorus, 7′P: *n*-HCl 中で 100°C, 7 分間に加水分解され遊離した燐量をそれぞれ示している。

結果および考察

[I] フナの場合

実験の結果は Table 1, 2 および 3 に示すごとくである。

（1） 魚体の部位および肉質の違いによる含量差

頸部，尾部普通肉の間には全く差が見られないが，これら普通肉と血合肉の間には CP を除いてあらゆる燐化合物区分において明らかな差が見られた。すなわち， CP は偏差補正を施すと各部位ともに同じ数値範囲 7.3～10.9 mg% に入る値を与えた。しかし他の燐区分についてはすべて頸部，尾部の普通肉が血合肉より大きな値を示している。このことから，この種の実験においては普通肉と血合肉をよく分離して試料とすることが望ましいと考えられた。

（2） 魚体の大小にもとづく個体差

魚体の大小によつて頸部 IP, CP, RP には差が見られないが， 7′P では小型 29.1 ± 1.8 mg%，大型 31.4 ± 1.1 mg%，TP では小型 178.4 ± 5.3 mg%，大型 187.5 ± 2.9 mg% と差が認められる。一方，血合肉では魚体の大小の間に差が認められない。

以上の結果から明らかなように，魚体の大小によつて差の認められる燐区分は少く，またその差もきわめて小さいものと言える。しかし大型と小型の魚を混合して求めた標準偏差が，大型，小型を別個に取扱つて求めたそれよりも，血合肉の IP, RP を除いてはいづれの燐区分においても大きな値となつてくることから実験の試料魚抽出にあたつては魚体の大きさもできるだけととのえることが必要である。

[II] サバの場合

実験結果は Table 4 に示すごとくである。

（1） 頸部普通肉と血合肉の肉質差にもとづく含量差

普通肉と血合肉の間にはいづれの燐区分においても明らかに差が見られた。IP; 60 mg%，7′P; 30 mg%，CP; 10 mg%，TP; 110 mg%，RP; 6 mg% 程度いづれも普通肉に多く含まれている。

（2） 個 体 差

サバについては，試料の都合により魚体の大小による差については検討しなかつた。Table 4 に明らかなことは，IP, TP の個体差が概して大きく 3.5～6.6 mg% の値を与え，次いで 7′P, RP の 1.4～3.8 mg% を与えているということである。しかし，これらの差も前報においてサバで得られたそれに較べれば著しく小さいものと言える。

[III] フナとサバの場合の比較

まづ頸部普通肉について見ると，サバはフナよりも各燐区分において大きな含量を示した。すなわち，サバはフナの含量に対して IP; 25%，7′P; 64%，CP; 83%，TP; 45%，RP; 113% 多く含有している。一方，血合肉においては IP, CP は両魚ほとんど同じであるが，7′P はフナがサバの 29% 多く，TP, RP はサバがフナのそれぞれ 10%，126% 多く含んでいる。また，XP/TP 値に示されるように，サバの方がフナよりも 7′P, CP, RP 等の有機燐の含有比率が高いことは注目される。

というのは，筋肉の三塩化醋酸抽出液で TP と IP の差として与えられるいわゆる有機性燐区分は，いづれも筋肉内代謝において重要な意義をもつものであると理解されており[2]，かかる点からすると，サバが

Table 1. Phosphorus compounds contents in muscles of gibel of small size and the statistically analysed data of them.

Body length	Body weight	Ordinary muscle (Neck)					Dark muscle					Ordinary muscle (Tail)				
cm	gr.	IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%	IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%	IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%
8.5	16.7	110.2 [5%] [*1]	30.0	10.3	168.0	17.5	89.3	23.4	7.1	132.5	14.7	117.7	29.6	8.2	173.5	18.0
8.5	16.8	122.2	26.5	8.5	173.9	16.7	92.0	21.7	6.8	135.8	15.3	120.4	26.2	7.9	170.7	16.2
8.7	17.5	118.5	26.0	8.9	171.6	18.2	88.4	24.2	7.5	133.8	13.7	119.9	25.8	8.0	170.9	18.2
8.8	17.5	123.5	28.4	10.3	182.0	18.0	90.7	25.2	8.5	140.4	16.0	122.3	28.8	8.9	178.7	17.7
8.8	17.8	120.6	30.4	12.6	181.1	17.5	93.5	24.8	10.1	150.9 [5%]	22.5 [5%]	121.8	29.2	10.4	179.5	18.1
9.0	20.0	119.8	31.8	17.0 [5%]	179.8	11.2 [5%]	86.6	26.6	10.1	138.4	15.1	120.0	30.1	16.3 [1%]	177.2	10.8 [1%]
9.2	22.0	120.7	28.8	9.2	177.2	18.4	95.2	27.4	7.8	145.8	15.4	121.5	27.7	8.0	175.0	17.8
9.4	21.5	126.9	30.1	8.5	183.4	18.0	92.8	24.8	8.1	140.5	14.8	127.5	30.3	9.8	186.1	18.5
9.6	21.3	124.3	30.1	9.2	182.7	19.1	94.6	28.0	9.5	148.1	16.0	125.5	29.4	9.2	182.1	18.0
9.9	25.5	126.4	29.3	10.2	184.4	18.5	97.0	26.5	8.4	147.4	15.5	126.0	27.9	9.4	180.8	17.5
Mean 9.0	19.7	121.3	29.1	10.5	178.4	17.3	92.0	25.3	8.4	141.4	15.9	122.3	28.5	9.6	177.4	17.1
Mean after St.-elim.-T.*2		122.5	29.1	9.7	178.4	18.0	92.0	25.3	8.4	140.3	15.2	122.3	28.5	8.9	177.4	17.8
Standard deviation		2.8	1.8	1.2	5.3	0.7	3.1	1.8	1.1	5.5	0.7	3.0	1.5	0.8	4.7	0.6
XP/TP*3		0.68	0.16	0.06		0.10	0.65	0.18	0.06		0.11	0.69	0.16	0.05		0.10

*1 The level on which the datum was statistically eliminated.
*2 Mean after statistical elimination of the data which depart significantly from homogeneity in the column
*3 The ratio of fractionated phosphorus amount against total phosphorus amount.

Table 2. Phosphorus compounds contents in muscles of gibel of large size and the statistically analysed data of them.

Body length cm	Body weight gr.	Ordinary muscle (Neck) IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%	Dark muscle IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%	Ordinary muscle (Tail) IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%
14.0	77.5	95.0[1%] *1	32.7	8.9	158.0[5%]	21.4	73.1[1%]	27.4	6.8	122.4[5%]	15.1	94.6[5%]	30.8	8.9	155.9[5%]	21.6
14.2	70.8	130.1	30.0	13.1	191.7	18.5	94.3	26.7	9.2	145.2	15.0	127.8	30.0	12.1	189.3	19.4
14.2	75.5	126.0	30.2	11.0	186.6	19.4	94.3	26.9	8.5	145.9	16.2	129.6	28.2	9.9	187.7	20.0
14.2	80.5	124.8	33.0	11.8	189.6	21.0	93.5	25.7	9.0	143.0	14.8	122.0	30.4	11.2	184.7	21.1
14.4	86.5	124.3	31.1	12.5	186.2	18.3	97.4	24.3	8.4	145.6	15.5	122.6	31.1	11.7	185.5	20.1
14.5	81.0	118.8	35.2[5%]	12.4	186.5	20.1	97.8	30.2[5%]	9.9	154.2	16.3	119.4	30.6	11.4	180.7	19.3
14.7	74.5	120.7	33.5	6.4[5%]	185.5	24.9[1%]	87.2	22.4	4.0[5%]	127.1	13.5	121.6	32.9	6.4[5%]	181.4	20.5
14.7	95.0	119.2	31.7	10.3	180.6	19.4	90.8	23.1	8.5	137.6	15.2	128.6	35.4[5%]	9.9	193.7	19.8
14.8	92.7	127.0	29.8	10.0	187.7	19.9	95.5	28.2	8.1	147.8	16.0	130.6	29.5	9.2	188.0	18.7
15.0	103.0	127.6	31.0	9.2	188.2	20.4	104.1	24.9	6.4	149.7	14.8	126.5	30.2	9.0	186.7	21.0
Mean 14.5	83.8	121.4	31.8	10.6	184.6	20.3	92.5	25.7	7.9	141.6	15.2	122.4	30.9	10.0	183.4	20.1
Mean after St.-elim.-T.*2		124.3	31.4	11.0	187.5	19.8	94.7	25.2	8.3	143.2	15.2	125.4	30.4	10.3	186.4	20.1
Standard deviation		3.7	1.1	1.4	2.9	1.0	3.9	1.8	1.1	7.2	0.8	3.8	1.4	1.2	3.7	1.0
XP/TP*3		0.66	0.17	0.06		0.11	0.65	0.18	0.06		0.11	0.67	0.17	0.05		0.11

*1 The level on which the datum was statistically eliminated.
*2 Mean after statistical elimination of the data which depart significantly from homogeneity in the column.
*3 The ratio of fractionated phosphorus amount against total phosphorus amount.

Table 3. The statistical data treated after mixing at every phosphorus fraction the analytical value with regard to the body size, which were shown separately in Table 1 and 2.

Body length cm	Body weight gr.	Ordinary muscle (Neck) IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%	Dark muscle IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%	Ordinary muscle (Tail) IP mg%	7'P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%
Mean 11.8	51.8	123.4	30.3	10.4	183.0	18.9	93.4	25.3	8.4	141.8	15.2	123.9	29.5	9.6	181.9	19.0
Standard deviation		3.7	1.9	1.5	6.0	1.2	4.1	1.8	1.2	6.9	0.7	3.8	1.6	1.3	6.3	1.1

Table 4. Phosphorus compounds contents in muscle of mackerel and the statistically analysed data of them.

	Body length cm	Body weight gr.	Ordinary muscle (Neck)					Dark muscle				
			IP mg%	7′P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%	IP mg%	7′P mg%	CP mg%	TP mg%	RP mg%
	14.5	35.5	149.4	$59.1^{5\%}$ *1	17.9	264.1	37.7	89.0	21.9	7.0	156.9	39.0
	14.3	32.3	152.7	50.8	20.2	270.4	46.7	93.6	21.2	10.0	164.6	39.8
	14.2	31.5	149.3	46.1	19.2	260.6	46.0	91.5	19.8	10.3	152.1	30.5
	14.2	29.0	165.6	46.0	19.4	264.1	33.1	89.0	17.5	$12.2^{5\%}$	150.3	31.6
	14.0	28.5	156.2	48.1	20.2	267.3	43.0	92.2	20.6	9.1	158.4	36.5
	13.8	28.5	161.2	51.1	17.8	269.1	39.0	99.2	19.2	9.5	159.0	31.1
	13.8	27.2	160.5	47.2	18.6	266.1	39.8	89.2	17.5	8.4	148.3	33.2
	13.7	26.7	147.2	54.2	19.9	258.9	37.6	97.4	18.4	8.2	156.4	32.9
	13.5	22.2	153.1	53.8	$29.3^{1\%}$	$276.0^{5\%}$	38.8	100.0	19.9	8.2	163.4	35.5
	12.8	22.0	143.7	51.3	18.4	264.1	$50.7^{5\%}$	97.8	19.7	9.3	$174.2^{5\%}$	$47.4^{1\%}$
Mean	13.9	28.3	153.9	50.8	20.1	266.1	41.2	92.9	19.6	9.2	158.4	35.7
Mean after St.-elim.-T.*2			153.9	49.8	19.1	265.0	40.2	92.9	19.6	8.9	156.6	34.4
Standard deviation			6.6	3.5	0.9	3.5	3.8	4.2	1.4	1.0	5.2	3.2
XP/TP*3			0.58	0.19	0.08		0.15	0.59	0.12	0.06		0.23

*1 The level on which the datum was statistically eliminated.
*2 Mean after statistical elimination of the data which depart significantly from homogeneity in the column.
*3 The ratio of fractionated phosphorus amount against total phosphorus amount.

フナよりも多くの有機性燐区分を含んでいることは，前報に述べた両魚の運動，活動性の相違ということを解釈する上に一つの生化学的な裏付けを与えるものと考えられるからである。

[IV] 綜合的考察

次に，その一例をサバに求めてここに得られた結果と，前報において得られた結果とを比較して考察する。普通肉についてこれを見るこ， 前報において求められた 7′P, CP はそれぞれ 10～0.7 mg%，16～0 mg% 程度であつたが， 本報ではそれぞれ 50 mg%，20 mg% といずれも 40～50 mg%，5 mg% 程度大きな値を示している。また，同様なことを IP について見ると， 上述した本報と前報の間における 7′P, CP の差の和にほぼ等しい 50mg% 程度前報が大きな値を示している。このことは，以後の報告において明らかにされるように，魚類筋肉内燐化合物は生体内においてきわめて変動しやすいもので，飼育条件や致死方法等の違いによつて大きな差を生じやすい性質をもつていることを示すものと解される。かような観点からすると，魚種差は別として，同一魚種における各燐化合物区分のそれぞれの魚に特有な個体差は前報において一応個体差と考えていた値よりもはるかに小さいものであり，その大きな差は棲息環境，取扱い条件の違いが生理的に魚に微妙に影響して生ぜしめた個体差であることが明らかとなつた。かように考えると，採肉前の魚体の棲息環境，取扱い条件等を統一するように細心の注意を払うならば，前報においては甚だ難しいことであると考えられた燐化合物含量の魚種的な差の解明も充分に可能となろう。

要　約

1. フナおよびサバを試料として，筋肉内燐化合物含量の個体差について検討を試みた。その結果，いわゆる個体差と称するものにはそれぞれの魚種に特有な個体差と，棲息環境，取扱い方法等の違いによつてもたらされる個体差とが含まれ，前者は後者に較べて著しく小さい。すなわち，同一魚種内における先天的個

体差はきわめて小さく，大きな値として現れてくる個体差は生活環境の違いや試料採取の方法の違いにもとづくものであることが明らかとなつた。

2. 魚体の部位および普通肉，血合肉という肉質の違いによつてもその含量に差が見られることから，この種の研究においては採肉の際これを分離して行うことが望ましい。

3. フナとサバの含量を頸部普通肉について比較した結果，いづれの燐区分においてもサバの方が大きな値を示している。また，両魚の筋肉内における有機燐の含有比率を比較して見ると，サバの方がかなり大きな値を与えている。このことは，これら有機性燐の生体内において果す役割と考え合わせて，両魚の運動，活動性の相違を解釈する上において大きな意義をもつものと考えられた。

文　　献

1) 中野智夫・土屋靖彦： 本誌，投稿中.
2) GLASS, B.: Phosphorus Metabolism, **Vol. 1, 659** (1951).

魚類筋肉内燐化合物の生理化学的研究—III.
RP についての検討

中 野 智 夫

(1960 年 8 月 9 日受理)

STUDIES ON THE PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY OF PHOSPHORUS COMPOUNDS IN FISH MUSCLE—III.
ON PHOSPHORUS COMPOUNDS NOT HYDROLYSED BY *n*-HCl IN 7 MIN. AT 100°C (EXAMINATION ON THE RP)

Tomoo NAKANO*

In the present report, phosphorus compounds contained in acid soluble fraction in fish muscles and not hydrolysed by *n*-HCl in 7 min. at 100°C was researched chromatographically. This phosphorus compounds fraction was shown with the abbreviation "RP", namely, TP-(IP + 7′P + CP), in this series of reports.

The results obtained suggests that the phosphorus compounds fraction is mostly consisted of the so-called mononucleotides such as AMP which is comparatively stable among organic phosphorus compounds.

魚類筋肉の酸溶性区分には多数種の燐化合物の混在が認められている[1]が，本研究において求められている RP は TP と (IP + 7′P + CP) の差として表わされている[2]。一般に高エネルギー結合を行つている燐化合物は，その燐酸結合部がきわめて不安定で，1N HCl 中で7分間 100°C に保てばその大部分が加水分解されてしまう[3]。

したがつて，RP は比較的安定な燐酸結合を行なつている化合物であることは予測される。このことをアデニール系燐化合物にその例を求めて述べるならばつぎのごとくである。すなわち，ATP は如上の条件で加水分解すると

$$ATP \longrightarrow ADP + Pi \longrightarrow AMP + Pi$$

となり，結局は AMP と無機燐酸とになつてしまう。AMP は ATP, ADP に較べてきわめて安定な化合物であるのでこの程度の条件では容易には分解されないのである。

本報において著者は魚類筋肉から酸抽出した燐化合物についても，これと同じことが言えるかどうかということについて若干の検討を加えた。なお，TP, IP, CP はそれぞれ総燐，無機性燐，クレアチン燐酸態燐を表わす。

本研究を行なうにあたり，終始御懇篤なる御指導をいただいた東北大学農学部土屋靖彦教授に衷心より御礼申し上げる。

実 験 方 法

酸溶性燐化合物の抽出: フナ頸部普通肉 1gr をとり，これに予じめ氷冷してある 2% 過塩素酸を 15ml 加え，低温 (0°C 前後) で海砂とともに乳鉢でこれを磨砕し，グラスウールで沪過，更に冷却した 10ml の 2% 過塩素酸でこれを洗い，蒸溜水を加えて 50ml に定容する。

* 聖霊女子短期大学家政学研究室 (Department of Home Economics, Holy Ghost Junior College).

イオン交換樹脂による燐化合物の分別および測定[4),5),6)]: 上記定容液を 5 ml とり，1 N HCl 中で 100°C，7 分間の加水分解を行ない，これを NaOH で中和し，更に濃アンモニア水を加えて pH を 9.0 に調整する。後これに蒸溜水を加えて 50 ml に稀釈し，予じめ洗浄調整してある Amberite IRA-400 のカラム柱に 1 ml/min の速度で通し，燐化合物を吸着せしめる。

ついで，下記のような組成の展開液を記載順に 1 ml/min の速度で流し，燐化合物を樹脂から脱着流出させ，これを 25 ml づつ採取した。

展 開 液 の 組 成

[A] 液: 0.01 M NH_4Cl	[C] 液: 0.02 M NaCl in 0.01 N HCl
[B] 液: 0.003 N HCl	[D] 液: 0.2 M NaCl in 0.01 N HCl

なお，カラムの長さは検討の結果 5 cm とし，断面の径は 1 cm とした。また，樹脂の粒度は 200 mesh 程度のものを用いた。

つぎに採取液中アデニール系物質の濃度は光学的に測定した。すなわち，一般にアデニール系物質は 260 mμ に吸収極大を有しているのでベックマン分光光度計を用いて，260 mμ における各分別液の吸光度を測定した。

実 験 結 果

実験の結果は Fig. 1 に示すごとくである。

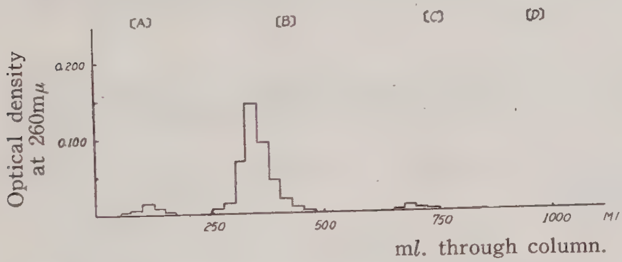


Fig. 1. Ionexchange separation of RP in fish muscle.

この結果に明らかなように，260 mμ に吸収極大をもつものの 89% が [B] 液で脱着される区分 [II] に在り，残りの 11% は [A] 液による脱着区分 [I] の 7% と，[C] 液による脱着区分 [III] の 4% ということになる。従来の研究[4),5),6)]によれば区分 [I] はアデニン，アデノシンその他のヌクレオサイドであり，区分 [II] はモノヌクレオチド，区分 [III] はヂヌクレオチド，区分 [IV] はトリヌクレオチドである。

以上の結果を燐酸結合の有無およびその割合から検討すると，RP の 94% 以上を占めるのが AMP, IMP 等の区分 [II] であり，残る 6% が ADP 等の区分 [III] であるということになる。したがつて，RP として示される燐化合物区分は，1 N HCl, 100°C, 7 分間という加水分解によつてほとんど影響を蒙らないような比較的安定な，すなわち燐酸結合部がエステル様に結合しているいわゆる低エネルギー燐化合物であろうと考えられた。

要　　　約

魚類筋肉中の酸溶性燐化合物で，1 N HCl, 100°C, 7 分間の加水分解を蒙らない区分すなわち RP で示される燐化合物がいかなるものであるかについてイオン交換樹脂を使つて検討した。その結果，その燐化合物区分は AMP 等のような比較的安定ないわゆるモノヌクレオチドから主として成つていると考えられた。

文　　　献

1) 藤巻正生等: 本誌，**19**，499 (1953).
2) 中野智夫: 本誌投稿中.
3) LOHMANN, K.: *Biochem. Z.*, **233**, 460 (1931).
4) COHN, W. E. and CARTER, C. E.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **72**, 4273 (1950)
5) 斎藤恒行・新井健一: 北大水彙報，**6**，228 (1955).
6) 宮崎英策等: 札幌医誌，**5**，371 (1954).

幽門垂蛋白分解酵素 関する研究—IV.*

鰹幽門垂蛋白分解酵素精製時の Glycylglycine Dipeptidase の動行

勝 又 悌 三・斗 ケ 沢 宣 久

(1960 年 8 月 2 日受理)

STUDIES ON THE PROTEINASE OF PYLORIC CAECA—IV. BEHAVIOUR OF THE GLYCYLGLYCINE DIPEPTIDASE DURING THE REFINING OF CRYSTALLINE PROTEINASE OF BONITO PYLORIC CAECA

Teizo KATSUMATA and Yoshihisa TOGASAWA**

The present investigation was made in order to elucidate the behaviour of the glycylglycine dipeptidase during the refining of crystalline proteinase of bonito pyloric caeca. The results were as follows:

The glycylglycine dipeptidase was adsorped on Amberlite XE-64 (Fig. 1), and the peptidase activity was observed in all the fractions except one case (fraction G) during the refining process (Table 1, Fig. 2 A～F).

As the peptidase activity disappeared in the fraction G, the crystalline proteinase obtained was known not to hydrolyze glycylglycine.

微生物から分離した結晶 proteinase が peptidase 活性を有するとの報告[1,2,3]もあり，著者等[4]の分離した鰹幽門垂結晶 proteinase の peptidase 活性の有無を明らかにする目的で， proteinase の精製過程における glycylglycine (GG) dipeptidase の動行を検討した。

実 験 方 法

1. 酵素液調製法： 鰹 *Katsuwonus pelamis* LINNÉ 幽門垂を前報[4]記載のごとく調製したものを使用した。

2. 酵素力測定法，酵素単位表示法，酵素純度表示法： 前報[5,6,7,8]に準じて行なった。ただし GG dipeptidase の場合は酵素力測定法にしたがい，pH 8.0, 37° ± 1°C で1時間作用させた時の酵素反応液 0.2 ml に対し N/100 alcoholic KOH 0.05 ml を消費するような酵素量を 1 peptidase 単位とした。

3. イオン交換樹脂の調製： 前報[9]のごとく再生した amberlite XE-64 を使用した。

結果ならびに考察

1. peptidase の吸着におよぼす XE-64 の量的関係

前報[9]記載のごとく XE-64 6% 添加により鮪幽門垂の proteinase および amylase がともによく吸着されるが，鰹幽門垂 peptidase の XE 64 による吸着の有無を検討した。すなわち XE-64 の各量をそれぞれ

* 昭和 35 年 4 月，日本農学大会水産部会において講演

** 岩手大学農学部 (Fac. Agr., Iwate Univ.).

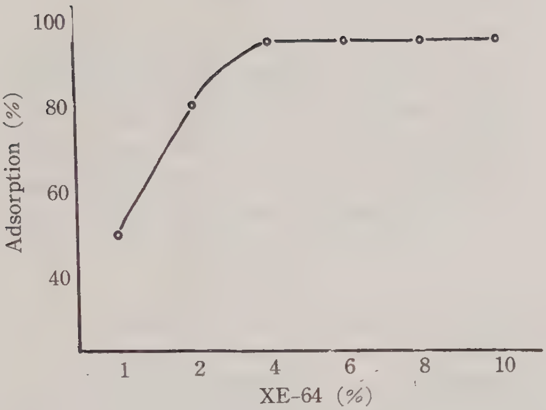


Fig. 1. Adsorption of GG dipeptidase on various amounts of XE-64 with acetate buffer at pH 5.0.
Adsorption % of the peptidase were shown by the activity after 1 hr. incubation.

Fresh bonito pyloric caeca distilled water extraction
Filtrate (A)
celite filtration
Filtrate (B)
adsorption with Amberlite XE-64
Enzyme-adsorped resin
removal of amylase
Protease-adsorped resin
elution of protease
Elute 1 (C)
Elute 2 (D)
salting-out
Precipitate
dissolution in distilled water and dialysis
Filtrate (E)
decolorization with Duolite A-2
Filtrate
addition with acetone to 80%
Precipitate
dissolution in distilled water
Supernatant (F)
treatment with acetone
Crystal (G)

Fig. 2. Simplified scheme of crystallization procedure of bonito pyloric caeca.

5 m*l* メスフラスコにとり M/20 acetate buffer (pH 5.0) を加えて 5 m*l* とし，一昼夜室温に放置して緩衝化する。buffer を除き B 液 2 m*l* づつ加え更に同一 buffer で 5 m*l* とし，10 分間室温に放置吸着させた後遠心分離 (10000 r.p.m.，5 分) して得た上澄液を酵素力測定に供した。なお同時に control test を行ない，両者の差から XE-64 に吸着された酵素の百分率を算出し，結果を Fig. 1 に示した。

結果，1 時間加水分解の場合 1 %添加で 50 %，2% 添加で 83.4% 吸着，4% 以上では完全に吸着され鮪 proteinase の場合とほとんど同様の結果が得られた。なお Fig. 2 における鰹幽門垂 proteinase 精製の場合，B 液に XE-64 6% を添加し proteinase ならびに peptidase を同時に完全吸着させた。

2. proteinase の結晶分離

前報[4] 記載の方法を要約して Fig. 2 に示した。ただし Fig. 2 におけるF液は 80% アセトン処理により生じた沈澱物を冷 80% アセトンで洗滌後蒸溜水 4 m*l* に溶解し，遠心分離 (10000 r.p.m.，5 分) して得た透明液であり，また G 液は生じた結晶 proteinase に 1 m*l* の冷 55% アセトンを加えて洗滌し遠心分離 (10000 r.p.m.，5 分) により洗液を捨て，この洗滌操作を 3 回繰返したものを真空乾燥後，N/10 ammonium buffer (最終 pH 6.0) に溶解したものである。

3. 精製過程における酵素力，収量ならびに比活性度

精製過程における proteinase，peptidase の酵素力は Table 1 のごとくであり，両酵素の各過程における収量ならびに比活性度を示すと Table 2 のごとくである。なお表中収量，比活性度は前報[7] 記載の方法にしたがい算出したものである。

すなわち収量は，C + D 液で proteinase 約 52% であるが，peptidase は 15% に減少する。これは amylase 除去のため acetate buffer (pH 5.0) で数回洗滌する際該酵素の失活と溶出に起因するものと考えられる。しかし peptidase の透析による損失は少ない。

Table 1. Activities of fractions of proteinase and peptidase

Enzyme	Frac. / Hrs.	A	B	C	D	E*	F**	G
Proteinase	1	0.10	0.11	0.20	0.15	0.19	0.21	0.07
	2	0.22	0.24	0.30	0.21	0.26	0.22	0.10
	3	0.32	0.34	0.34	0.27	0.33	0.28	0.12
	6	0.42	0.42	0.43	0.34	0.43	0.36	0.15
	20	0.50	0.51	0.51	0.48	0.49	0.49	0.22
Peptidase	1	0.08	0.09	0.05	0.03	0.05	0.08	0
	2	0.15	0.17	0.07	0.05	0.08	0.15	0
	3	0.19	0.22	0.13	0.09	0.11	0.22	0
	6	0.27	0.30	0.19	0.13	0.14	0.26	0
	20	0.54	0.54	0.39	0.34	0.36	0.39	0

Figures denote m*l* of N/100 alcoholic KOH.
* E in Fig. 2 was diluted to 1/5.
** F in Fig. 2 was diluted to 1/10.

Table 2. Yields and specific activities of fractions of proteinase and peptidase

		A	B	C	D	E	F	G
	Volume (m*l*)	2670	2250	410	390	110	5.1	75
	Total protein N (mg)	2423	510.3	136.4	76.7	149.7	10.4	1.98
Proteinase	Total proteinase unit	356000	330000	109333	78000	139333	14280	7000
	Yield (%)	100	92.9	30.7	21.9	39.1	4.1	2
	Specific activity	147	647	802	1017	931	1373	3535
	Ratio of specific activity to A	1	4.4	5.5	6.9	6.3	9.3	24
Peptidase	Total peptidase unit	284800	270000	27333	15600	36666	5440	0
	Yield (%)	100	94.8	9.6	5.5	12.4	1.9	0
	Specific activity	118	529	200	200	245	523	0
	Ratio of specific activity to A	1	4.5	1.7	1.7	2.1	4.5	0

F 液では proteinase 4.1% に対して peptidase は 1.9% であるが，G 液で proteinase 2% に対して peptidase は 0% となる。

一方，比活性度は酵素原液の比活性度に対してB液では両酵素ともほとんど同じであるが，C, D, E 各液では proteinase がそれぞれ 5.5，6.9，6.3 と増加するのに対して peptidase はそれぞれ 1.7，17.，2.1，F 液で peptidase はようやくB液の比活性度 4.5 と同じ値になるが proteinase は 9.3 に増加する。G 液において proteinase が 24 倍になり peptidase 活性は全く消失する。

吉田氏等[1] は *Aspergillus saitoi* から分離した結晶 proteinase が peptidase 活性を有していることを報告しており，また野本氏等[2,3] は *Streptmyces griseus* から分離した結晶 proteinase が基質蛋白を構成する全ペプチド鎖の 80% 以上を分解し GG をはじめ種々の合成ペプチドを分解することを報告しているが，鰹幽門垂結晶 proteinase 調製過程において peptidase 活性はB液まではほとんど損失なく，C+D 液において 15% に減し，E, F 液においてなお proteinase と行動をともにし，透析液を脱色後アセトン処理して得られた結晶 proteinase 溶液G液においてはじめて peptidase 活性が消失する。すなわち鰹幽門垂結晶 proteinase は GG を全く分解しない。

要　　　約

鰹幽門垂結晶 proteinase の調製過程における GG dipeptidase の動行を追及し，同時に結晶 proteinase の peptidase 活性の有無を検討した結果はつぎのごとくである。

Fig. 2 における鰹幽門垂結晶 proteinase 調製過程において GG dipeptidase 活性は B 液までほとんど損失なく，amberlite XE-64 に吸着させ，amylase を除去後硫安分別沈澱，透析，脱色後アセトン 0.8 飽和により生ずる沈澱にまで proteinase と行動をともにし，最終結晶 proteinase 溶液において全く peptidase 活性を消失した。すなわち鰹幽門垂結晶 proteinase は GG を全く分解しない。

文　　　献

1) F. Yoshida and M. Nagasawa: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **20**, 262 (1956).
2) 野本正雄・奈良橋快子・村上　碩: 理化学研究所報告, **35**, 154 (1959).
3) 野本正雄・奈良橋快子・村上　碩: 理化学研究所報告, **35**, 261 (1959).
4) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三・石川雅司: 本誌, **25**, 470 (1959).
5) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **25**, 122 (1959).
6) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **23**, 157 (1957).
7) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **23**, 163 (1957).
8) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **21**, 1070 (1956).
9) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **25**, 402 (1959).

多脂肪魚を原料とした節類の脱脂について

金田尚志・金子徳五郎・梅本 滋
石井清之助・酒井寿恵

(1960 年 8 月 12 日受理)

A METHOD FOR REMOVING OILS FROM OILY "KATSUOBUSHI" AND OTHER DRIED STRIPS.

Takashi KANEDA, Tokugoro KANEKO*, Shigeru UMEMOTO**, Seinosuke ISHII and Hisae SAKAI*

"Katsuobushi" is a dried strip prepared from skipjack, *Katsuwonus pelamis* (LINNE). It is frequently used for a broth of Japanese style soups. However, sometimes when it contains an amount of oil originated from raw material, the product is not regarded to have a high qua ity. It is also the case with dried strips from sardine, mackerel and saury that contain oils.

With a view to improving the quality of these products, the authors carried out the extraction of oils from dired strips with n-hexane. After extraction of oils, the products were found very much improved in property as indicated in tables, figures and plates. The soup prepared from the treated material became clear and showed a better taste than that from non-extracted one.

I. 緒　　言

日本各地で製造されているかつお節の品質は地域的にかなりの差があることはよく知られた事実である。この品質の差は製造地における技術の差に由来する点ももちろんあるが，一番大きな理由は全国各地で水揚けされるカツオの含油量に差があるということである。すなわち，餌を求めて北上するカツオの群は北に向うにつれ多くの餌を摂るため体は肥満し油がのつてくる。そのため，油の少い原料を使用することが多いサツマ節，土佐節などは良質である。一方，含油量の多いカツオを主として原料に用いることを余儀なくされている三陸節はいわゆる油節となりやすく，こうしたものは出汁がきかず，時には含有油の変敗により出汁は不味となる。

また最近各種の雑節を原料とする削り節が消費者の嗜好に合い，かなり製造されるようになつたが，削り節原料とされるサバ，サンマ，ソーダガツオ，イワシなどは含油量の多い時期が長い。そのため多脂肪魚を原料とした節からつくつた削り節は1カ月もたたないうちに油焼けを生じ，花は赤褐色を呈し，またたとえ焼けを生じていない時でも味は悪い。

現在こうした悪変の防止法として，かつお節については油ののつたカツオを極力使用しないこと，また油を含んだものの場合は油が体の表面近くにあるのでこの部分を削りおとして使用している。また雑節についてはイワシ，サバ等は何等の処置も施さないで製造しているが，サンマの場合はジュール熱を応用して加熱し，この際同時に圧搾を行なつて脱脂している。しかし多脂肪魚を原料としたかつお節の場合，たとえ油の多い部分を削りおとしても良い原料から製造した節にくらべるとその品質はかなり劣る。また圧搾サンマはかなり脱脂されているが，圧搾時に油とともに旨味も抜けてしまい良い削り節とすることができない。

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.).
** 東北海区水産研究所 (Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.).
東海区水産研究所業績 B 337 号　東北海区水産研究所業績 154 号

筆者等のうちの2人はさきに多脂肪カタクチイワシから煮干を製造する際の脱脂法について報告したが[1]，こうした考え方を多脂肪魚を原料とした節類についても応用してみようと思つた。すなわち，節類の製造中ないし製了後溶剤を用いて脱脂を行なうことによつて，油脂含量少く，したがつて油焼けを起さず，美味な出汁の得られる節の製造を試みた。

そこでまずかつを節については1番火終了後の荒節を *n*-ヘキサンで粗脂肪を分ち，以後在来法と同様に処理して本枯節とした。この節は処理法を誤らなければ適当に脱脂され，商品としての価値を向上させることができた。またイワシ，サバ，サンマ等の雑節については乾燥品をヘキサンで抽出処理した後，削つたところ脱脂しなかつたものにくらべて，花は粉末とならず，油焼けも生ぜず，また澄んだ美味な出汁が得られ，本法は十分実用的な価値があることを認めた。

II. 実 験 の 部

1. 脱脂かつお節の製造： 塩釜産かめ節（1番火終了のもの）を *n*-ヘキサン中に浸漬脱脂し，以後常法によつて本枯節とした。使用した原料魚の漁獲位置，かつを節製造過程等は Table 1 のごとくである。

Table 1. Data of "Katsuobushi" making process.
第 1 表 原 料 処 理 過 程

Sample No. 試料 No.	Date of catch 漁獲月日	Fishing places 漁場	Date of landing 水揚月日	Date of preparation 生処理月日	Date of smoking 焙乾月日	Date of molding カビ付月日	Date of finish 製了月日
I	May, 22～29, 1959	N 34～35° E 146～149°	May, 31	Jun., 1	Jun., 3～	Jul., 4～	Sep., 28
II	Jun., 29～Jul., 1. 1959	N 36° E 141°	Jul., 2	Jul., 3	Jul., 5～	Aug., 25～	〃 28

試料 No. I の原料魚体については体長，体重等を測定し得なかつたが，体重は 2kg 前後とのことであつた。また No. II の試料は体長 51cm，体重 2.6kg のものである。これ等はいずれも半身を脱脂し，他の半身は従来法でかつお節とした。

脱脂量，製品の粗脂肪含量は Table 2 のごとくである。

Table 2. The properties of "Katsuobushi" after solvent extraction.
第 2 表 脱脂および未脱脂かつお節の性状

Sample No. 試料 No.		Wt. of raw Katsuobushi before extraction (g) 脱脂前なまり節重量 (g)	Wt. of extracted oil (g) 脱脂量 (g)	Katsuobushi 本枯節		
				Wt. of Katsuobushi (g) 節重量 (g)	Moisture (%) 水分(%)	Crude oil (%) 粗脂肪(%)
I	I-1 (Extracted) I-2 (Control)	415	18.4 —	230 250	13.8 14.6	10.5 20.1
	I-3 (Extracted) I-4 (Control)	240	6.9 —	145 170	12.0 14.0	7.2 15.6
II	II-1 (Extracted) II-2 (Control)	460	21.9 —	230 260	12.0 11.0	12.6 20.0

すなわち，ヘキサン抽出によつて製品の含油量は未脱脂のものにくらべ大略半分となつた。試料 No. I は塩釜地方で油節と称されるもので，脱脂節は未脱脂のものにくらべ品質ははるかに良好となつた。カビの発育具合いは脱脂処理を行なつてもあまり変りないが，脱脂したものは早くかつお節らしくなり，2番カビをつけた際，未脱脂のものの3番カビと同程度の枯れ具合いを示していた。ただし，油節製品にみられる皮付部分の表皮の皺ないし剝離については脱脂節も完全とはいい難い点があり，無油物に比較するとやや劣る

ものがあつた。脱脂節および従来法による製品を業者が評価した結果は Table 3 のごとくであつた。

すなわち脱脂処理によつて価格をかなり高めることができるように思われる。しかし脱脂処理によつて製品はしまり，脱脂した油脂の量だけの重量が減り，脱脂操作に費用を要するので，これらの点については充分留意の必要があろう。

Table 3. Prices of "Katsuobushi" after solvent extraction.

第 3 表　脱脂節の価格

Sample No. 試料 No.	Oil extraction trertment 処理法	Price (Yen per 37.5 kg) 価格(37.5 kg 当り)円
I	脱脂 Applied	10,000
	対照 Not applied	6,500
II	脱脂 Applied	11,000
	対照 Not applied	8,000

なお脱脂処理によるかつお節中のエキス分の変化について一応比較検討した。すなわち，脱脂および未脱脂かつを節を削り，3倍量の 80% エタノールを加え，80°C で3回抽出をくりかえし，抽出液は合して減圧濃縮，更に無水エタノールを加え減圧濃縮，エーテルで粗脂肪を分ち，残存するエキス分を秤量した。その結果，未脱脂節のエキス量は 12.20%，脱脂節は 11.70% で両者の間の差はほとんど認められなかつた。またエキス中に含まれる各種成分が消失していないかどうかを知るためペーパー・クロマトグラフィーによる定性を行なつた。すなわち，No. II の脱脂および未脱脂節を用い，背肉および腹肉の部分が均一になるように削り，これを江崎等の方法[2]によりエキスを分離した。すなわち，90°C の熱水中に削つた節を投入し，沸騰直前まで加熱して火から下ろし，上澄液を沪別，減圧濃縮して得たエキスを試料とした。ペーパー・クロマトグラフィーに当つては東洋沪紙 No. 50 (40×40 cm) を用い，試料エキスは水溶液とし，その 0.01 cc を使用した (0.01 cc 中 0.5 mg のエキスを含む)。第1次元展開はフェノール，アンモニヤ溶媒を用い，30°C の恒温器中に 22 時間保ち，第2次元展開はブタノール，酢酸，水 (4：1：2) 溶媒を用い，前記同様の恒温器中に8時間保つた。発色は 0.2% ニンヒドリン・ブタノール溶液によつた。なおアミノ酸の同定はエキス中に含まれると思われるアミノ酸を添加同定した。得られた結果は Fig. 1 に示すように，かつお節含有エキスは脱脂処理を受けても変化していない。なお同定したエキス中のアミノ酸はヒスチヂン，アラニン，チロシン，グリシン，グルタミン酸，アスパラギン酸等である。

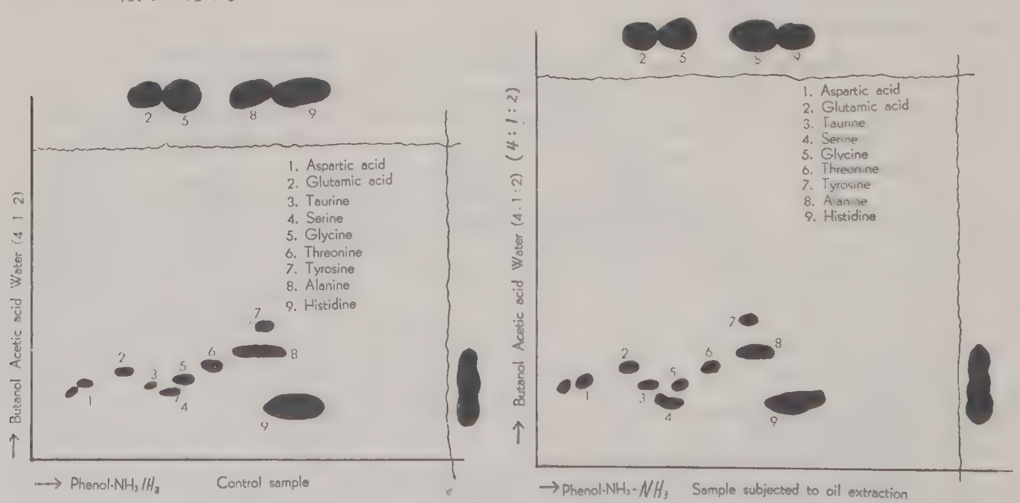


Fig. 1. Paper chromatographic positions of the amino acids in the alcoholic extracts of "Katsuobushi".

このように脱脂処理によつてエキス分に変化のないことを知つたが，出汁の味はエキス量だけで云々することはできない。すなわちいかにエキス分が多く濃厚な味をもつていても，不快臭を有するようなものは出

汁として良質とはいえない。この点脱脂処理を行なつたものは不快臭の原因となる魚油が除かれているため出汁は臭気がなく，したがつて上品な風味をもつ出汁といえる。

2. イワシ削り節原料の脱脂: 鳥取県境港市で製造されたマイワシおよびウルメ節を原料として用いた。これらはいずれも含油量多く，油が節の表面にベタベタと固り，油焼けを起しており，このままでは食用には到底することができないものであつた。本試料を前記の実験と同様にして *n*-ヘキサンで脱脂した (Table 4)。

Table 4. Oil content of "Iwashibushi" after solvent extraction.

第 4 表 イワシ節脱脂結果

Sample 供試節名	Crude oil (%) (粗脂肪 %)		
	In raw material 原料中	After extraction, once 1回抽出後	After extraction, twice 2回抽出後
Large sardine 大羽イワシ	21.2	4.9	2.4
Round herring ウルメイワシ	14.8	5.8	2.2
Small sardine 小羽イワシ	18.2	4.1	2.4

Table 4 中 1 回抽出として示したのは *n*-ヘキサンに一夜浸漬したもの，2 回抽出とは溶剤をとりかえて再度抽出をくりかえしたものである。抽出後節中に残存する溶剤は生蒸気を吹き込んで除去した。これらの試料を削つたところ写真 (Plale 1) に示すように，脱脂処理を施したものは未脱脂のものにくらべ，はるかに好結果を得た。すなわち，未脱脂のものを削ると粉となつてしまうが，脱脂したものはきれいな花となる。この理由を明らかにするために削つた花をズダン Ⅲ で染色して検鏡したところ写真 (Plate 2) に示すように，未脱脂のものは組織間に脂肪が存在し，その個所から折れてくだけることが判る。一方，脱脂処理をしたものは脂肪の消失したあと，組織が接合してそのために粉末化しにくいと考えられる。また未脱脂試料の出汁は油のため濁り生臭い魚臭をおびているが，脱脂処理した試料の出汁は淡色で，液は澄み，臭気はなく上品な旨味を持つていた。更に，削つたものを保存しておくと，未脱脂のものは間もなく油焼けを生じ赤変するが，脱脂したものは焼けを全く生じない。なお脱脂の程度はあまり極端でない方がよく，ヘキサン抽出を 2 回くりかえしたものよりも，1 回行なつて 5% 前後の油脂を残存するものの方が美味な出汁が得られた。

3. 圧搾サンマの脱脂: 福島県産圧搾サンマ（含油量 12.6%）を前記の試験と同様に *n*-ヘキサンで脱脂し，前記試験とほぼ同様な結果を得た。ヘキサン抽出前後でのエキス量の変化をみるため，脱脂および未脱脂圧搾サンマから製造した削り節について，かつお節の際と同様にしてエキス分を分離秤量したところ，圧

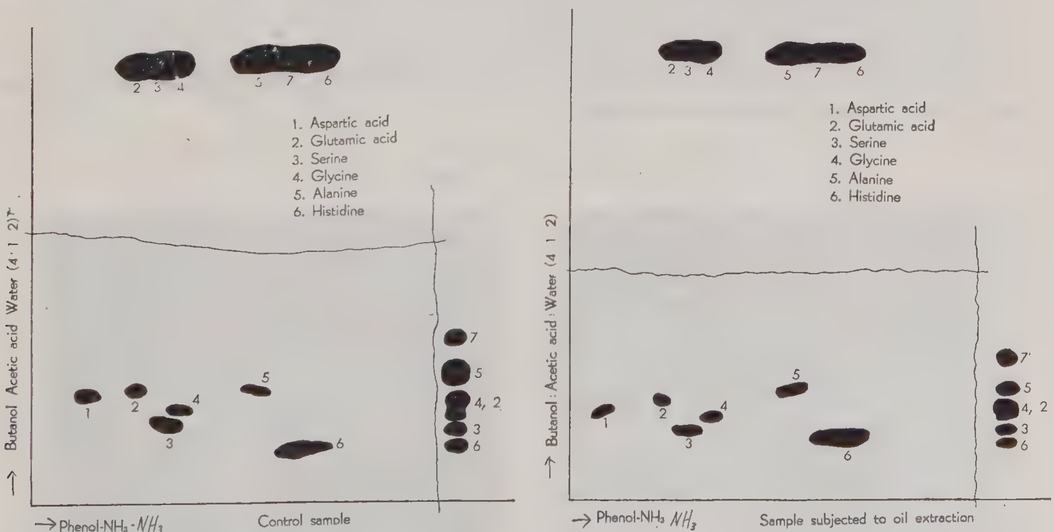


Fig. 2. Paper chromatographic positions of the amino acids in the alcoholic extracts of dried saury strips.

搾サンマはヘキサン抽出処理の有無にかかわらず，両者とも 4.0% のエキスを含むことを認めた。

さらにこれらエキスについて，かつお節エキスの場合と同様にペーパー・クロマトグラフィーを行なつたところ，検出されたアミノ酸は Fig. 2 に示すように試料の脱脂処理の有無による差はなかつた。エキスにはヒスチヂン，アラニン，グルタミン酸，セリン，グリシン等が含まれていることを確認した。

III. 考　　察

以上の結果から，含油量の多いかつお節ないしイワシ，サバ等の雑節はいずれも *n*-ヘキサン抽出処理を行なうことによつて，その品質を非常に向上させることとができるといえる。

これ等の節類を脱脂する際，煮干脱脂のときのような細心の注意は不用である。すなわち煮干は外観を重くみるため，形がくずれないで，また変色を生じないように極力留意する必要があるが，削り節では原料が多少赤変していても，また形がくずれていても削つてしまうので大きな問題とはならない。なお脱脂後も節の表面は油焼けと同様な色調を呈しているが，これは油焼けが進み，*n*-ヘキサンを用いては除去することができないような構造のものになつているためである。しかし筆者等の研究[3] によれば，このような状態となつたものを摂取しても体内で消化吸収されないでしまうため毒性を呈することはないと考えられる。

抽出装置は特別なものを必要としない。従来植物油の抽出に用いられているバッチ式の抽出器で充分である。また抽出後節中に残存しているヘキサンは生蒸気を吹込むことで容易に除去することができる。

含有脂肪抽出の程度は消費者の好みによつて加減する必要がある。粗脂肪を極度に抽出すると，出汁は無色で澄み，魚臭は全く感じない。そのためこのような削り節は従来の削り節の概念をはなれ，西洋風の料理にも使用することができると考えられる。一方，消費者によつては脂肪を多少とも残した方が味が濃厚であると感ずる向きもあると思われるので，抽出処理に当つてその処理の程度を考慮する必要があろう。かつお節の香気は節中に含まれている油脂に起因するといわれている[4] ので，かつお節は完全には脱脂しない方がよいといえる。

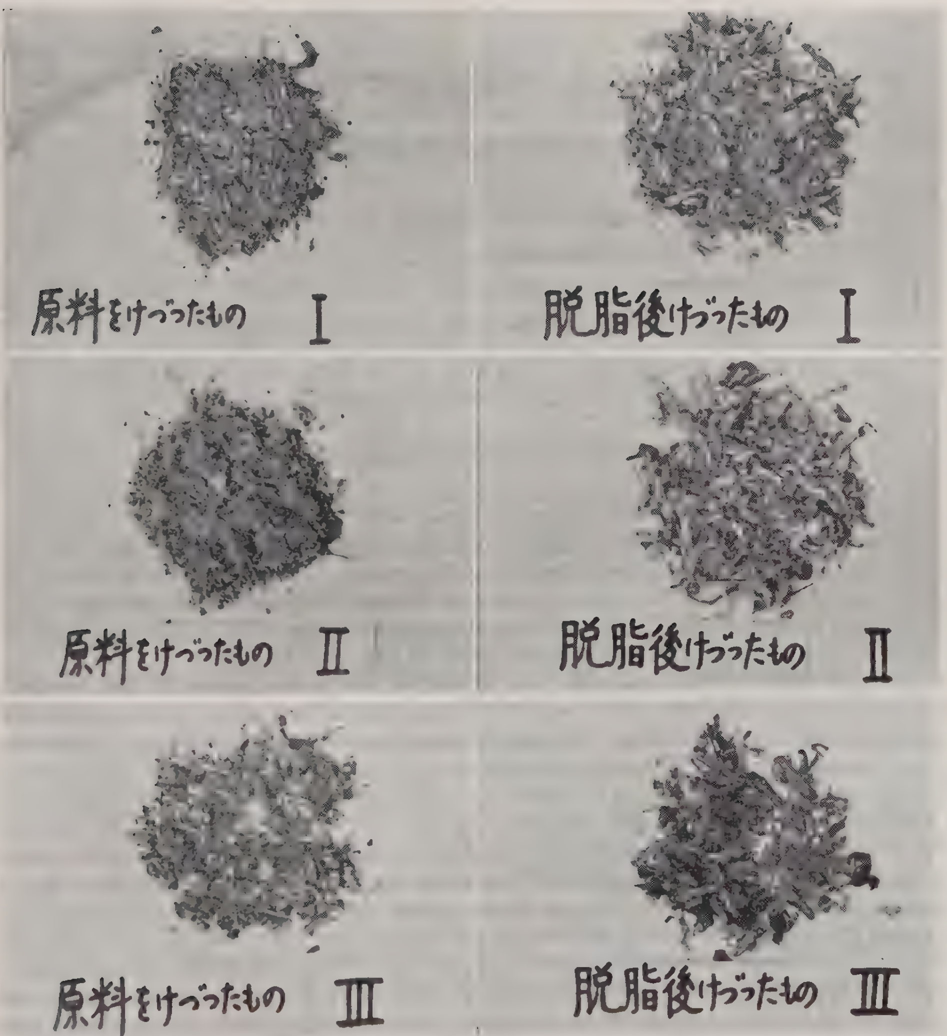
IV. 摘　　要

多脂肪魚を原料として製造したかつお節およびその他の雑節について，その製造過程中または製了後に *n*-ヘキサンで含有油を抽出する処理を試みたところ，無処理のものにくらべ，削つたものの粉末化が防止されるとともに，美味で澄んだ出汁の得られる良品とすることができた。

本研究を行なうに当り，御指導を賜つた東海区水研利用部長東秀雄博士に謝意を表します。また，かつお節製造の便宜を図られた塩釜市齊和工場に感謝します。

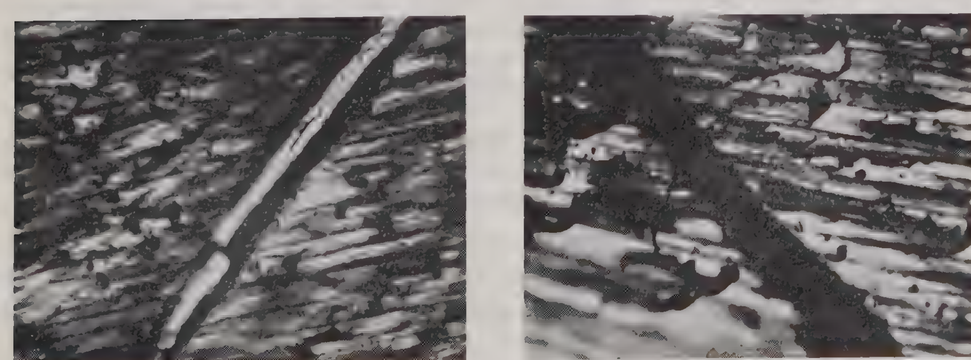
文　　献

1) 金田・石井： 東海水研報，**20**，61 (1958).
2) 江崎等： 家政学研究，**I**，43 (1954).
3) 金田等： 東海水研報，**12** (1955).
4) 小幡等： 農化，**26**，184 (1952)； 本誌，**19**，151 (1953).



Control sample   Sample subjected to oil extraction

Plate 1. Samples of dried sardine strips as scraped for a broth.
I : large sardine, II : round herring, III : small sardine.



Control sample   Sample subjected to oil extraction

Plate 2. Microscopic details of dried sardine strips (by Sudan III, 300×).

かつお節のシラタに関する研究—I.

色調の灰白色化に関する分光光学的検索（その1）

小 泉 千 秋・野 中 順 三 九

(1960 年 8 月 18 日受理)

STUDIES ON THE *SHIRATA* IN *KATSUOBUSHI*—I. SPECTROPHOTOMETRIC STUDIES INTO THE DISCOLORATION OF *KATSUOBUSHI* UNDER STORAGE (Part 1).

Chiaki Koizumi and Junsaku Nonaka*

The *katsuobushi*, an important product in Japan made from skipjack by a time-honored special method of drying, is truly a masterpiece from various points of view, and yet there remains some room for further improvement in its property. The occurrence of the so-called *shirata*, for instance, along with which a piece of *katsuobushi* under storage loses its original amber color to become ashy white with simultaneous moldering of its body, often gives rise to more or less serious drops in commercial value of this product.

As the amber color of *katsuobushi* is to be due to the heme pigment in the muscle of skipjack as raw material, the said discoloration may surely be a change of this pigment developing through a certain course. Some difficulties, however, stand in the way of approach to this course, because the muscle pigment already denatured as in a piece of *katsuobushi* cannot be extracted with any sort of solvent to be directly measured. Also the known method of estimating the color tone of meat by measuring the light coming reflected by the meat fails to be availed in the case of *katsuobushi* because of the extreme transparency of this product. The authors, now trying to extract with HCl-acetone the heme component after deriving it to hemin, found that the extract from an amber-colored normal portion of *katsuobushi* alway contained the hemin thus formed but the extract from *shirata* comprised no hemin (Fig. 4). This tells the absence of muscle pigment in the *shirata* portion, suggesting the destruction of porphyrine ring into simpler pyrrole derivatives. Watts[2] states in his lecture on the color change of meat products through oxidation that the porphyrine ring as the prosthetic group of heme pigment is attacked, opened and further led to derivatives more and more strongly reduced in the constituent pyrrole rings with corresponding change in color from yellow down to a colorless state. Since the authors confirmed on the other hand that chips of *katsuobushi* are readily brought by aeration into a state of shirata (Figs. 5 and 6), the development of said ashy white with the formation of *shirata* may perhaps be taken, in analogy to the case of other meat products described by Watts, as a manifestation of an oxidative destruction of muscle pigment caused by the air that surrounds the *katsuobushi* pieces.

かつお節のシラタは貯蔵中に起る悪変化の一つで，かつお節本来の色調であるベッコウ色が節の表面特に皮付側の表面から内部に向つて次第に灰白色化して光沢を失い，肉質は緻密性を失つて粗崩となる。従つて鉋で削ると粉末になり易く，節の商品的価値を著しく損うものである。かつお節のシラタは土佐節に比較的少なく薩摩節に多く発生するといわれ，また大谷ら[1]が多脂肪のかつを原料として節を製造するとその後の貯蔵中にシラタになり易いと述べていることを考え合せれば，かつお節のシラタが節の脂肪含有量に関係しているらしいことは容易に想像できる。しかしながら今までのところシラタに関する科学的な検討は行われ

* 東京水産大学 (Tokyo Univ, Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan),

ずその本質は全く不明である。

シラタの部分が灰白色に見えるということについては二つの理由が考えられる。その一つはシラタの部分の組織が粗崩であることから，色素自身の化学的変化ではなくて光線が乱反射されて白つぽく見えるという考え方であり，他の一つは化学的に筋肉色素が褪色しているという考え方である。著者らはかつお節のシラタが灰白色に見えるのは節が含有する筋肉色素が化学的に変質するためであろうと考え，恐らく筋肉色素の補欠分子族である porphyrine が pyrrole 誘導体にまで開裂するものと推量した。そこでかつお節の普通部分（ベッコウ色を呈している部分）とシラタ部分とが含有する筋肉色素量を比較するためにその各々から hemin の抽出を試み，普通部分からは明らかに hemin を抽出し得たがシラタ部分の抽出物については全く hemin の存在を証明することはできなかつた。このことはシラタ部分の筋肉色素が破壊されていることを証明するものであるが，その分解生成物がどのようなものであるかについては未確認である。WATTS[2]は肉製品の色調の酸化的変色に関する著述のなかで，筋肉色素の porphyrine 環が開裂して4個，3個，2個，1個の pyrrole 誘導体へと分解して行くに従つてその色調は黄色から無色へと変化していくと述べている。

更に著者らはシラタにおける色調の灰白色化は空気中の酸素の作用によつて著しく促進されることも確認したので，これらのことより節の筋肉色素の porphyrine 環の開裂は酸化的なものであると思われる。

実　　験

I) かつお節から hemin の抽出

CONNELLY ら[3]が牛の心筋に用いた方法を簡略にして用いた。かつお節を鉋で削り乳鉢で磨砕した粉末100g にクロロホルム：メタノール (2：1) 混合溶液 300 ml を加えて，時々攪拌しながら1時間放置し，これを吸引沪過して残渣をわける。残渣についてこの操作を更に1回繰り返す。次に，この残渣に 300 ml のアセトンを加えて 30 分間攪拌した後，吸引沪適して残渣をわける。この殊渣に 200 ml の塩酸-アセトン (37% の塩酸を 3.6 ml 含む) を加えて 40 分間時々攪拌して hemin を抽出し，抽出液をわけ，残渣について更に2回新しい塩酸-アセトンで抽出を繰り返す。このアセトン抽出液（淡い桃色を呈する）を集め，15N のアンモニア水 3 ml を加えて充分に攪拌し，冷蔵庫（約 4°C）内に1時間放置後，上澄液を傾瀉して除き遠心分離して沈澱を集める。この沈澱を 5N のアンモニア水 0.05 ml を含む 20 ml のアセトンで2回洗浄し遠心分離して洗液をわける。ここで集めた沈澱を窒素ガス気流中で乾燥し，乾燥後約 30 ml の 2% 塩酸溶液に溶解し，遠心分離して不溶解物質を沈澱として得る。この沈澱を更に1% 塩酸溶液で2回洗浄し遠心分離して沈澱をわけ，ここで得た沈澱を少量の無水メタノールに溶解して不溶解物質を沪過して除く。このメタノール溶液のメタノールを室温で減圧留却して残渣を得る。この残渣に1滴のピリジンを加えて溶解しクロロホルム溶液として可視部における吸収を測定する (Fig. 2, 3)。

II) かつお節の普通部分とシラタ部分中に含まれる hemin 量の比較

かつお節の普通部分とシラタ部分を鉋で削り乳鉢で磨砕した粉末の 50g をまず 100 ml のアセトンで 30 分間時々攪拌して処理した後，傾瀉してできるだけアセトンを除く。この操作を更に1回繰り返す。次に 60 ml のクロロホルム：メタノール (2：1) 混合溶液で 30 分間抽出した後，傾瀉して抽出液をできるでけ充分にわける。この抽出操作を2回繰り返し，抽出液を集める。次に 60 ml の塩酸-アセトン（アセトン 1 l につき 37% 塩酸 18 ml を含む）で 30 分間時々攪拌して hemin を抽出し，傾瀉して抽出液をわける。この抽出操作を2回繰り返し抽出液を集める。ここで集めた塩酸-アセトン抽出液とクロロホルム-メタノール抽出液の可視部における吸収を測定して，かつお節の普通部分とシラタ部分の hemin 含量を比較する。

III) 通気によるシラタ化のモデル実験

色調のよい良質のかつお節を鉋で削り乳鉢で磨砕して 40 メッシュ以下の粉末を集め，20g づつ3区分にわけ，その各々を次の a), b), c) の3種の方法で処理し，通気によるかつお節のシラタ化のモデル実験を行なう。

a)　かつお節の粉末から直ちに次のごとくして hemin を抽出する。まず 50 ml のアセトンで 20 分間宛

2回抽出する。次に 50 ml のクロロホルム: メタノール (2:1) 混合溶液で 20 分間宛3回抽出する。次に 50 ml の塩酸-アセトン (アセトン 1 l につき 37% 塩酸を 18 ml 含む) で 20 分間宛3回 hemin を抽出する。

b) 20g のかつお節の粉末を硝子管 (2.0×25 cm) につめ，アスピレーターで吸引して1週間連続的に通気する。通気後 a) と全く同様に hemin を抽出する。

c) 20g のかつお節の粉末を磨り合せの小型三角フラスコに入れ，ヘッドスペース中の空気を窒素ガスで置換し，パラフィンで密封して暗所に室温で1週間放置後 a) と全く同様に hemin を抽出する。

以上 a), b), c) で得た塩酸-アセトンおよびクロロホルム-メタノール抽出液の可視部における吸収を測定して hemin 量を比較する。

結果および考察

かつお節本来の色調であるベッコウ色は原料かつおの筋肉中に含まれている筋肉色素に基づくことは疑いない。松浦ら[3] によれば，かつおはその普通筋肉中に筋肉色素であるヘモグロビンおよびミオグロビンを約 140～180 mg% 前後含有する。

かつお節中に存在する筋肉色素は変性しているので，もはや抽出は不可能である。そこで節の筋肉色素含量を比較するのに筋肉色素の補欠分子族である heme を抽出し，この抽出液のソレー帯における吸光度を用いた。最初かつお節から塩酸-アセトン抽出で得た粗 hemin 抽出液の 350～450 mμ 領域における吸収曲線を調べると Fig. 1 のAに示すごとく 380 mμ に吸収極大が認められる。この粗 hemin をある程度精製してメタノール溶液としてから再び吸収を調べると Fig. 1 の B に示すごとく吸収極大は多少長波長側に移動して 397 mμ に出現する。市販 hemin の少量を無水メタノールに溶解して吸収を調べると 399mu に吸収極大が存在し，かつお節から得た hemin のそれとほぼ一致する。

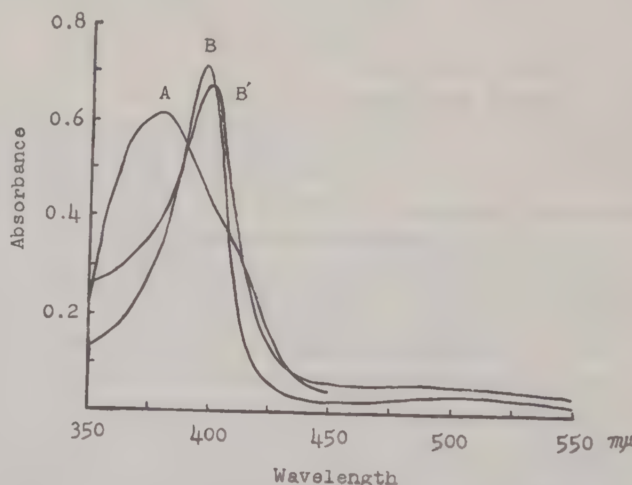


Fig. 1. Absorption spectrum changing with the degree of purification for a hemin extracted from *katsuobushi*.
A: Extracted with HCl-acetone. B: Somewhat purified A dissolved in absolute methanol. B′: Commercial hemin in absolute methanol.

更に最後に pyridinehemichrome となしクロロホルム溶液として得た吸収曲線を調べると，350～450 mμ の領域では 387 mμ に鋭い吸収があり，500～700 mμ の領域では 512～514 mμ と 536～540 mμ の2カ所に弱い吸収があり，また 643 mμ にも明瞭な吸収極大が認められる (Fig. 2, 3)，ここで得た吸収曲線は市販 hemin より得た吸収曲線と一致する。

以上のことから著者らがかつお節から塩酸-アセトン抽出で得たものが hemin であることは疑いなく，387 mμ における鋭い吸収は porphyrine に基づくソレー帯であることは明らかである。従つて最初にかつお節から塩酸-アセトン抽出で得た淡い桃色の抽出液の 380mμ における吸収はソレー帯であるということになり，poprhyrine の4個の pyrrole は閉環していることを示すものと考えてよいであろう。このようにかつお節の塩酸-アセトン抽出液の 380 mμ における吸収を測定することによつて簡単に節の相対的な hemin 含量を知ることができるので，以後節の色調を比較するのに塩酸-アセトン抽出液の 380 mμ における吸光

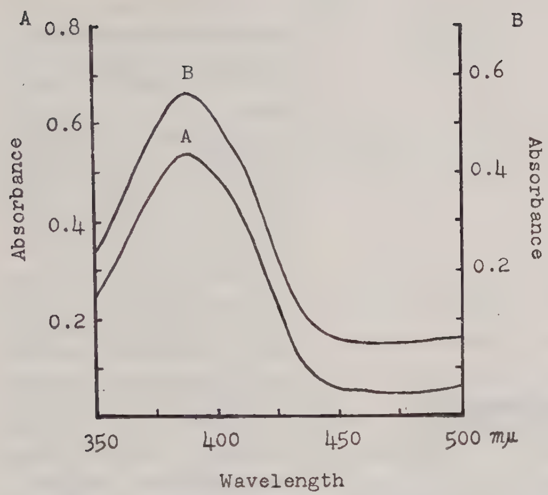


Fig. 2. Spectrophotometric comparison between a pyridinehemichrome from *katsuobushi* hemin (A) and a pyridinehemichrome from commercial hemin (B).

度をもつて示すことにする。

かつお節から得た塩酸-アセトン抽出液の吸収曲線を Fig. 4 に示したが，ベッコウ色をした普通部分では 380mμ に明瞭な吸収の極大が認めれるが，既に灰白色化したシラタ部分では吸収極大は全く認められない。

また塩酸-アセトンで hemin を抽出する前にクロロホルム-メタノール混合溶液で前処理を行うが，節によつてこの抽出液が淡い赤色を呈することがある。

この抽出液の吸収曲線を調べてみると 421 mμ に比較的鋭い吸収が認められる (Fig. 4)。この抽出液に 2，3 滴の濃塩酸を加えて再び吸収曲線を調べると 412 mμ に存在した吸収極大は 395～397 mμ に移動しており，市販 hemin をクロロホルム-メタノール (2 : 1) 混合溶液に溶解し 2, 3 滴の濃塩酸を加えた溶液が 398～399 mμ に吸収極大を有する

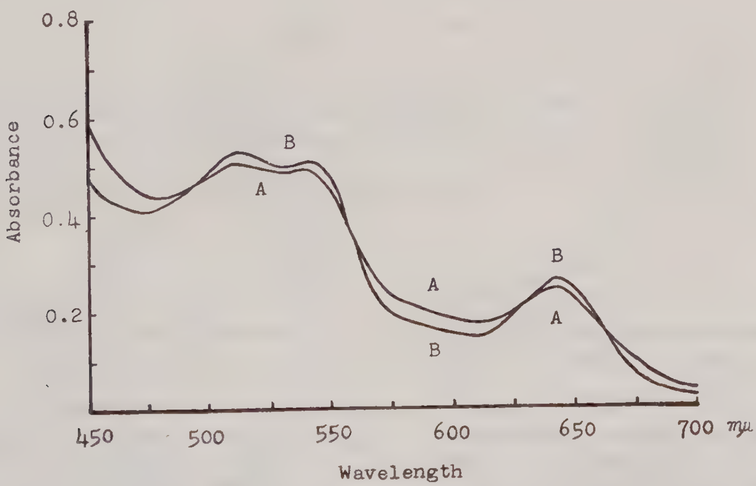


Fig. 3. Spectrophotometric comparison between a pyridinehemichrome from *katsuobushi* hemin (A) and a pyridinehemichrome from commercial hemin (B).

ことから，クロロホルム-メタノールによつて抽出された 412 mμ に吸収極大を有する物質も恐らく heme 化合物であろう。すなわち長い間貯蔵されたかつお節にはベッコウ色を呈する物質として二つの状態の heme が考えられる。一つは単にクロロホルム-メタノールで抽出できる heme（この種の heme を便宜上遊離型の heme と呼ぶことにする）と塩酸-アセトンでなければ抽出できない heme（この種の heme を便宜上結合型の heme と呼ぶことにする）である。既に灰白色化したシラタからは遊離型の heme も結合型の heme も抽出できなかつた (Fig. 4)。このことはかつお節がシラタになつて灰白色になるのは節中に存在する筋肉色素が消失するためであることを示しており，シラタの色調から考えて，恐らく筋肉色素の補欠

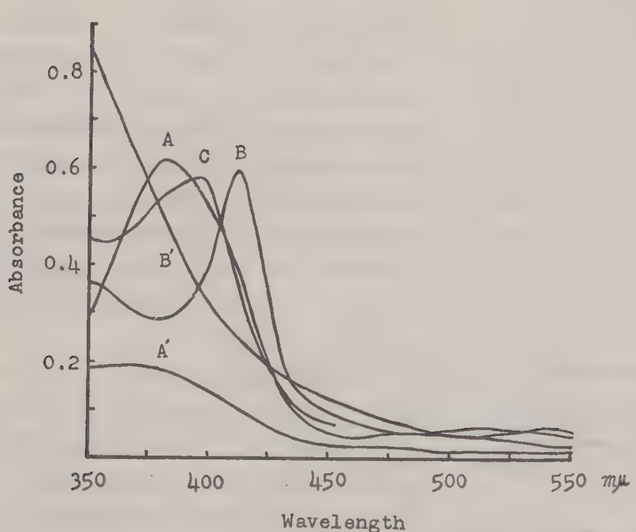


Fig. 4. Heme contents as spectrophotometrically compared between the normal portion and *shirata* portion of *katsuobushi*.

A: A hemin extracted with HCl–acetone from the normal portion of *katsuobushi* (measured after dilution with same volume of this solvent). B: A hemin extracted with a chloroform-methanol mixture (2:1) from the normal portion of *katsuobushi* (measured after dilution with same volume of this solvent mixture). C: B added with a few drops of conc. HCl. A′: A hemin extracted with HCl–acetone from *shirata* portion of *katsuobushi* (measured after dilution with same volume of this solvent). B′: A hemin extracted with a chloroformmethanol mixture (2 : 1) from *shirata* portion of *katsuobushi* (measured after dilution with same volume of this solvent mixture).

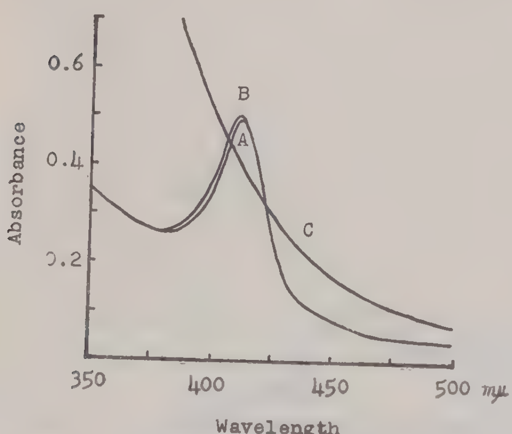


Fig. 5. Spectrophotometric illustration of oxidative destruction of the heme pigment in *katsuobushi*.

A: Chloroform-methanol (2 : 1) extract. B: Chloroform-methanol (2 : 1) extract after 7 days storage at room temp. in the dark. C: Chloroform-methanol (2 : 1) extract after aerating for 7 days at room temp.

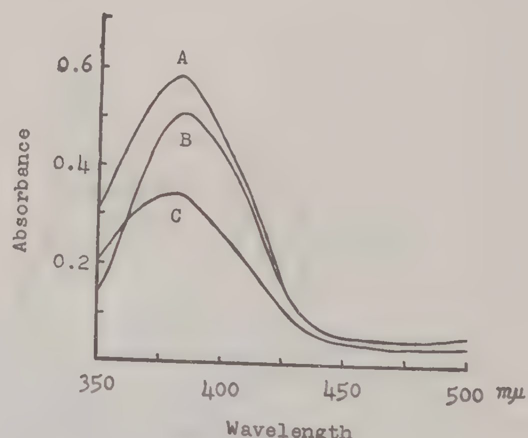


Fig. 6. Spectrophotometric illustration of oxidative destruction of the heme pigment in *katsuobushi*.

A: HCl–acetone extract. B: HCl-acetone extract after 7 days storage at room temp. in the dark. C: HCl-acetone extract after aerating for 7 days at room temp.

分子族である porphyrine 環が開裂分解したものと考えられる。

著者らは以前に，かつお節を不活性ガスで貯蔵するとシラタの発生が遅れることを認めた。このことから空気中の酸素がシラタの発生を促進する一つの主要な因子であると考えてよいであろう。かつお節の粉末を硝子管につめて 1 週間連続的に通気すると殆んどシラタに近い色調になり，また heme を抽出してみると遊離型の heme は全く消失し，結合型の heme もかなり減少していることが認められる (Fig. 5, 6)。一方，窒

素ガスで封じて暗所に室温で同期間放置した場合には遊離型の heme 量は放置前と全く変わらず，また結合型の heme も多少減少している程度で殆んど褪色は認められかつた (Fig. 5, 6)。しかし，空気中の酸素が直接かつお節の筋肉色素に作用して heme，すなわち porphyrine を破壊するものであるか，あるいはかつお節が含有する他の成分がまず酸化し，その酸化生成物が二次的に porphyrine に作用して破壊するものであるかは次の報告にゆづるが，いずれにしても，かつお節のシラタにおける色調の灰白色化は節中の筋肉色素が消失するためであり，この筋肉色素の消失に対しては空気中の酸素が重要な役割を演じていることは明らかである。

要　　約

かつお節のシラタにおける色調の灰白色化の原因を分光光学的に検討した。かつお節の普通部分からはベッコウ色を呈する物質として塩酸-アセトンで hemin を抽出し得たが，シラタ部分からは全く抽出し得なかつた。このことから，節がシラタになつて灰白色になる色調の変化は節の筋肉色素の porphyrine 環の破壊に基づくものと考えられる。かつ節のシラタ化は空気中の酸素によつて著しく促進されるが，空気中の酸素が節の筋肉色素の porphyrine 環に直接作用して破壊するものであるか，あるいは節の他の成分がまず空気中の酸素によつて酸化し，その酸化生成物が二次的に porphyrine に作用して破壊するものであるかは今後の研究問題であるが，いずれにしても porphyrine の破壊は酸化的なものであると考えられる。

終りに臨み実験材料を提供された株式会社かねにんべん専務高津照五郎氏に感謝する。なお本研究の研究費の一部は文部省試験研究費によつた。ここに記して謝意を表する。

文　　献

1) 大谷武夫・奥田　譲：水産食品化学，P. 260 (1933).
2) BETTY M. WATTS: *Advances in Food Research* **5**, 16 (1954).
3) JERALD L. CONNELLY, MARTIN MORRISON and ELMER STOTZ: *J. Biol. Chem.* **233** (3), 743～747 (1958).
4) 松浦文雄・橋本周久：本誌，**20** (4), 308～312 (1954).

PHOTOSENSITIZATION OF ANIMALS BY THE VISCERA OF ABALONES, *HALIOTIS SPP.**

Yoshiro Hashimoto, Koji Naito and Junzo Tsutsumi**

(Received Aug. 24, 1960)

As long ago as 1899, Takenaka and his coworkers[1] recorded a few cases of peculiar dermatitis observed on fishermen in the Okushiri Island of Hokkaido, who felt first signs of the disease while they were engaging in catching abalones. The patients had sudden attacks of burning and stinging sensation over the whole body with subsequent pricking, itching, edema and ulcer. The cause was supposed to be something like an electric shock presumably discharged from abalones. In 1900, Koga[2] offered opposition to their assumption by giving detailed description of several similar cases occurred in the Iki Island, Nagasaki Prefecture, and suggested the disease must be a kind of food poisoning due to ingestion of the abalone viscera in large quantities, whereas he recognized the intake did not necessarily accompany the dermatitis. It was also pointed out that the cutaneous findings were confined to the skin irradiated by sunshine and there was noted a distinct boundary between covered and uncovered parts of the skin with clothes. Except these old reports, no literature dealing with the human dermatitis of this type has been found.

Among some fishermen in the Tōhoku district, on the other hand, there has been an old saying that the internal organs of the gastropod become toxic to cats in some season and make the tips of ears slough out when fed by cats. On this respect, Toba[3] described in 1928 that the liver of *Haliotis discus hannai* was toxic to cats and gave rise to development of swelling and pruritis in the ears, whereas it was quite nonpoisonous to human. By suggestion of Dr. Ino in the Tōkai Regional Fisheries Research Institute, the present authors have had a chance to visit Omoe, one of abalone producing centers on the east coast of the Tōhoku area, and to get some informations. According to the oldest inhabitants, the dermatitis was rather popular in old times among inhabitants as well as cats and in spring annually, but it has not been seen since the present prohibition period of abalone fishery ranging from April to October was set up about fifty years ago. In addition, the inhabitants are generally suspecting the notorious acidic seaweeds belonging to the genus, *Desmarestia*, as the origin of toxic principle: some of them consider the viscera are no more toxic, if the ingested seaweeds are thoroughly washed out from the digestive tract, whereas others believe the toxic principle is taken up from the algae and accumulated by the liver. In this connection, Ueda[4] who studied the feeding habit of the gastropods by examin-

* Studies on marine biotoxins. III.

** Laboratory of Fisheries Chemistry, Faculty of Agriculture, the University of Tokyo.
*** (東京大学農学部: 橋本芳郎・内藤幸次・堤 淳三)

ing the stomach contents indicated that these acidic brown algae are favorite food of the animals.

The present study is an attempt to establish more exactly the relation of the viscera to the poisoning, and several lines of investigation have been pursued. The significance of sunlight in the disease, sensitivity of experimental animals and distribution of the toxic principle in the body of abalones were examined.

Experimental

1. Materials

Abalones of two representative species, *Haliotis sieboldii* and *H. discus hannai* were used as test materials. The former which was 12.5~16.7 cm in shell length was collected in May at Misaki, Kanagawa Prefecture, and dissected in the laboratory. The latter, 10.4~12.2 cm in length and collected also in May at Omoe, Miyako City, Iwate Prefecture, was dissected immediately after catch and frozen with dry ice. These materials were stored at −15°C in a freezer.

2. Sensitivity of test animals

Symptoms of the following laboratory animals, cats, rats, mice and a rabbit were observed after oral administration of the raw liver of abalones, which was proved to be a sole toxic organ as described later. Although they revealed no appreciable symptom so far as kept in a dark room, these animals except a rabbit developed dramatic ones when exposed to sunlight. The following is the description of a series of typical observations.

a) Rats The liver mixed with a stock ration (The diet M for experimental animals made by The Oriental Yeast Co.) was given orally to young albino rats weighing from 60 to 150 g. Appearance and growth were quite normal, while four rats were given daily doses of 15 g./100 g. body weight for five consecutive days and the stock diet for further one week, unless they were not exposed to sunlight.

After exposure to sunlight transmitted through ordinary window glass to prevent sunburn,[5,6] first signs of symptoms, erythema and pruritis, developed in animals fed the liver in a single or daily doses. In highly sensitized animals, erythema of the ears appeared in a few seconds. The animals then became irritable, scratched themselves, rubed exposed skin and shaked the head frequently. The portions of the skin uncovered by fur, ears, nose and paws, became swollen and inflamed. The swollen ears fell backwards in a characteristic manner for a while (Pl. I–A) and the hair around eyes and mouth got wet. Violent rushes in crying and convulsive fits occurred intermittently. After about half an hour animals could no longer stand due to paralysis of the limbs and died in an hour in most severe cases.

In the majority of rats, survived from a serious condition by removal from sun-

light and kept in a dark place, remarkable sequelae developed. For example, the rat, No. 30 in Table 2, showed the loss of appetite and weight for three days, accompanied by lowering of temperature. The swelling subsided a few days after, leaving much of skin in a necrotic state. Sclerosis and necrosis became apparent on the ears, back and head, and the affected skin sloughed out about three weeks after (Pl. I–B). The decayed ears were not recovered, whereas the naked portions in the back and head were soon covered with regenerated hair.

The control rats showed none of these typical symptoms of photosensitivity. Symptoms of sensitized animals were dependent on dose of the liver, time after intake, length of exposure and intensity of sensitizing light. In the present study, reaction of rats was tentatively classified and recorded as severe (⧺), moderate (++), weak (+) and negative (−), as given in the footnote of Table 2.

Pathological examination of affected animals is now in progress.

b) Mice Erythema in the ears was observed in sensitized mice which were fed daily the liver of 8∼10 g./100 g. body weight for three days and exposed on the next day to transmitted sunlight, but symptoms were far less distinct than those of rats.

c) A rabbit A rabbit weighing 330 g. was orally administered 50 g. of the liver daily for three days and twenty hours later from the last feeding exposed to sunlight for two hours. No symptom was observed.

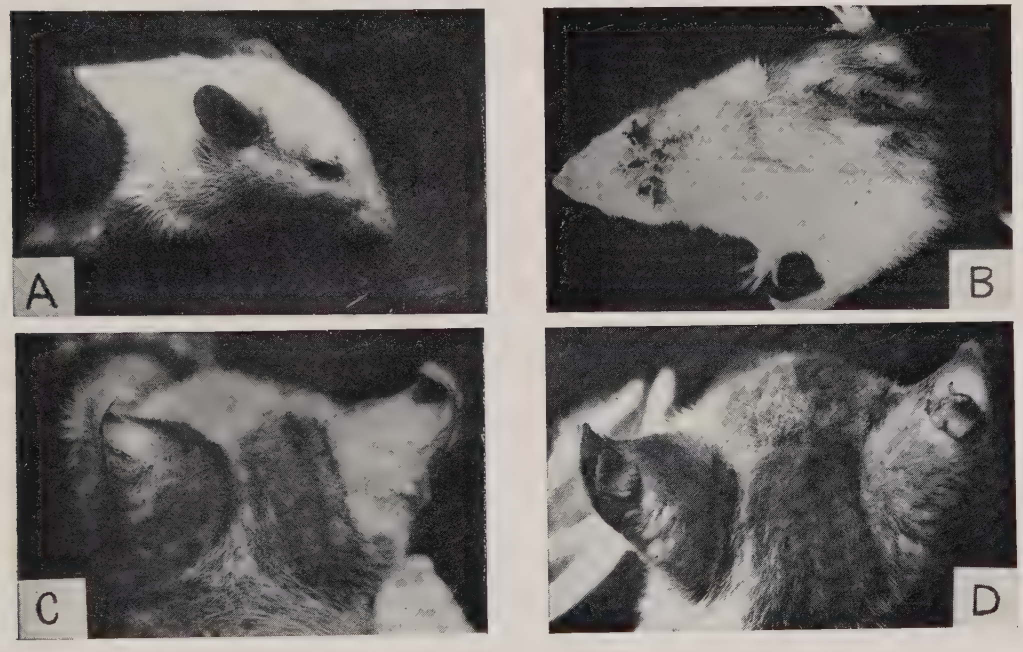
d) Cats Two white-haired cats weighing 655 g. (No. 1) and 627 g. (No. 2) were kept on the stock diet composing of canned pet food and milk. The cat, No. 1, fed daily 50 g. of the liver mixed with the stock diet for three days and kept in a drak place, showed no symptom. After exposure to sunlight on the next day, however, the striking symptoms occurred. The animal began to scratch the ears and head about three minutes later, and this was followed by erythema and swelling of eyelids, nose, lips, tongue, buccal mucosa and paws. The animal became irritable and busy in rubbing the face, licking paws and rolling about due to pruritis. About twenty minutes later, the eyes closed by swelling of eyelids and the animal rushed around the cage excitedly and fitfully. Shedding tears and slavering were also observed, together with occasional rush. This condition continued to the end of exposure lasting two hours.

Erythema and swelling of the exposed skin except the ears subsided in three days and appetite became normal. One week later, loss of hair around the nose occurred. The most characteristic sequela was observed in the ears, the tips of which curled inside in a peculiar manner (Pl. I C) as the result of progressive necrosis in the back of ears and restored the original shape simultaneously with the falling out of the affected parts (Pl. I–D).

The other cat (No. 2) was used as a negative control in the above experiment and successively fed the liver before being exposed to sunlight. The quite similar symptoms were observed during the exposure to sunlight, but sequelae were less severe than those of the former. The loss of hair around the nose and mouth occurred,

whereas the swelling and erythema of the ears subsided in a week, without leaving any necrosis.

Pl. I



3. Distribution of photodynamic substance in the abalone body

By using rats as test animal which were found to be far more convenient and satisfactory, the toxicity of each parts of the abalone body was examined.

The abalone body was divided into muscle (foot) and the so-called viscera as usual, and the latter was further dissected into two parts, the liver and the other viscera which are consisted of the mantle, gills and insignificant internal organs. In *H. sieboldii*, the digestive tract was vacant and the gonad was undeveloped. In *H. discus hannai*, the only slightly developed gonad was included into the liver portion as it was very difficult to separate both organs. The stomach contents were chiefly composed of sea-weeds. These parts were washed with water, mixed with the stock diet after grinding and given in a single dose to two groups of two rats each. The washing with water was omitted in the case of the stomach contents. Each group took the diets well. The one group was then kept in a dark place and on the stock diet for a few days, without any ill effect. The other group was exposed to transmitted sunlight in parallel with the negative controls.

As shown in Table 1, the photodynamic substance is detected only in the liver.

4. Relation between dose and sensitization

Effect of dose on the sensitization was examined by administrating different amounts of the liver in a single dose. The results are shown in Table 2.

Table 1. Distribution of photodynamic substance in the abalone body

Species	Parts of body	Rats No.	Rats Body wt.	Reaction of rats*	Notes
H. sieboldii	Muscle	1	139	–	Date of feeding; May, 10
		2	67	–	Dose; 12.5 g/100 g.
	Viscera without liver	3	77	–	Time after intake; 21 hrs.
		4	88	–	Time of exposure; 60 mins.
	Liver	5	80	+++	
		6	83	+++	
H. discus hannai	Muscle	7	135	–	Date of feeding; May, 25
		8	107	–	Dose; 15.0 g./100 g.
	Viscera without liver	9	117	–	Time after intake; 16 hrs.
		10	118	–	Time of exposure; 120 mins.
	Stomach contents	11	96	–	
		12	117	–	
	Liver	13	105	+++(80)**	
		14	125	+++(71)	

* See the footnote of Table 2.

** Figures in brackets indicate death time in min.

Table 2. Relation between dose and sensitization

Species	Rats No.	Rats Body wt.	Dose g./100 g.	Reaction of rats	Notes
H. sieboldii	17	99	12.5	+++	Date of feeding; May, 11
	18	80	〃	+++(120)	Time from intake; 16 hrs.
	19	81	10.0	++	Time of exposure; 60 mins.
	20	83	〃	++	
	23	60	6.0	+	
	24	71	〃	+	
	25	76	2.0	–	
	26	67	〃	–	
H. discus hannai	13	105	15.0	+++(80)	Date of feeding; May, 25
	14	125	〃	+++(71)	Time from intake; 16 hrs.
	29	114	10.0	+++(105)	Time of exposure; 120 mins.
	30	111	〃	+++	
	31	98	5.0	++	
	32	116	〃	++	

* –......Negative reaction, +......Weak reaction (erythema and slight swelling limited to the ears), ++......Moderate reaction (marked erythema with swelling in all portions of exposed skin and apparent pruritis, but without convulsive fits, necrosis of skin, loss of hair and death), +++......Severe reaction (severe symptoms with subsequent necrosis of skin or death)

The sensitization was shown to be dependent on the dose of liver and in both species the single dose over than 5 g./100 g. body weight was effective to induce photosensitivity in the experimental conditions adopted. The concentration of photodynamic substance in the liver of both species, however, was not comparable, as the experimental conditions were different, especially in the intensity of sunlight and time of exposure.

Discussion

The symptoms of rats, cats and mice, photosensitized by the abalone liver, are essentially similar to those described by many authors[5-9] on the photosensitized stock or laboratory rats, viz., erythema, swelling, ulceration and necrosis of superficial areas exposed to sunlight. It was also clearly shown by the present study that the abalone viscera poisoning is due to a combination of the ingestion of liver and subsequent exposure to sunlight and nothing but a typical one of photosensitization diseases, which have been known from old as hypericism, fagopyrism and many others. The disease of farm animals, such as sheep, cattle and goats, has been a world-wide problem of considerable economic importance, whereas no such case has ever been reported in Japan.

These results, combined with the testimony of inhabitants in Omoe, strongly support the view of Koga that the abalone viscera are responsible for the human dermatitis and the exposure to sunlignt is an indispensable factor. It is quite possible that the photosensitization disease of human takes place, if the two conditions are provided, the ingestion of the viscrea in large quantities and subsequent exposure to sunlight, even though such cases may be seldom seen. The opinion of Toba that the viscera are toxic only to cats and not to human is hardly acceptable.

Although little attention has been paid to this food poisoning, partly due to the occurrence in remote places and insignificance in the public health, it seems to be of peculiar interest in two ways from an etiological point of view. This case represents the first, to our knowledge, in which the occurrence of dietary photosensitization disease of human was described, and secondly this may be a sole example of photosensitization induced by the food of animal origin, as all photodynamic agents so far reported seems to be of vegetable or synthetic ones. In the light of diversity and complexity of the photosensitization phenomena, as extensively reviewed by Clare[5] in 1955 and by Biggers[7] in 1959, further detailed studies may be necessary to establish the type of this photosensitization disease.

Acknowledgment

The authors wish to express their thanks to Dr. Ino for his constant interest and advice in this investigation.

References

1) Takenaka S., G. Sawada and M. Yoshioka: Tokyo Iji Shinshi. No. 1114, 1359 (1899).
2) Koga S: ibid., No. 1179, 1977 (1900).
3) Toba G: Venus, **1**, 24 (1928).
4) Ueda S. and Y. Okada: This Bull., **8**, 51 (1939).
5) Clare N. T.: Advanc. in Vet. Sci. **2**, 182 (1955).
6) Chick H. and P. Ellinger: J. Physiol. (London) **100**, 212 (1941).
7) Biggers J. D.: The Pharmacology of Plant Phenolics, p 71 (1959).
8) Horsley C. H.: J. Pharmacol. Exptl. Therap. **50**, 310 (1934).
9) Pace N.: Am. J. Physiol. **136**, 650 (1942).

軟体動物成分に関するポーラログラフ的研究—III.

福　島　　清・岡 田 郁 之 助

(1960 年 8 月 24 日受理)

POLAROGRAPHIC STDUIES ON THE MOLLUSCAN MEAT—III.

Kiyoshi FUKUSHIMA* and Ikunosuke OKADA**

In the previous papers[1,2], the authors have reported that a polarographically reducible substance is found in the water soluble extractives of molluscan or crustacean meat and it is probably one of the organic bases.

In this paper, we are dealing with the ultraviolet absorption spectrum and the polarographic property of this substance which was purified by the paper chromatographic technique (Fig. 1).

According to the results, the fraction No. 3 had an absorption maximum at 272 $m\mu$ in water or Mc Ilvaine's buffer solution of pH 7.0 (Fig. 3), and showed a refined reduction wave (Fig. 2). The substance was found mainly in the sub-fractions 3a and 3b (Figs. 4 and 5), and then irrelevant to the ninhydrin positive substance (refer to Fig. 1B).

緒　　　言

著者らは前報[1,2]において，軟体動物および甲殻類動物に特有な成分と思われるある物質がポーラログラフ法により還元波を示す事を知り，イオン交換樹脂分離法により当該物質が有機塩基類に属するものであることを報告した。

本報においてはイカ肉エキス成分について，前報[2]と同様の手法により分割された塩基区分につきペーパークロマトグラフィー紫外部吸収およびポーラログラフィー等により更に詳細にその性質を検討したので報告する。

実 験 の 部

実験 I. イオン交換樹脂系統的分離法による各区分のアミノ酸類の挙動

イカ肉水抽出液を試料とし，前報[2]の第 II の分離法（アミノ酸ならびにペプチドおよび有機塩基の分離を主とする場合）に従つて得られた各区分濃縮液のペーパークロマトグラフィーを行ない，アミノ酸を検出した。展開剤はブタノール・醋酸・水 (4：1：4)，発色剤は0.1%ニンヒドリン・ブタノール溶液を使用した。*Fraction* I のイカ水抽出液活性炭処理濃縮液について，R_f = 0.11, 0.17, 0.20, 0.27, 0.30, 0.33, 0.44 および 0.61 の計 8 種のアミノ酸スポット，*Fraction* II の有機酸並びに糖区分に R_f = 0.20, *Fraction* III の有機塩基区分に R_f = 0.23 の各 1 種宛のアミノ酸スポットを認めた。更に *Fraction* IV のアミノ酸区分には，前記 *Fraction* I の活性炭処理液の場合とほぼ同様 R_f = 0.15, 0.17, 0.20, 0.27, 0.30, 0.32, 0.47 および 0.62 の計 8 種のアミノ酸スポットを検出した。

以上の通り Amberlite IR 120 (H^+ 型) および IRA 400 (OH^- 型) 樹脂カラムの使用によつて分割された *Fraction* II の有機酸および糖区分，*Fraction* III の有機塩基区分にそれぞれ 1 種類宛のアミノ酸が若

* 現在，味の素 K. K. 食品研究室
** 東京水産大学化学教室 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

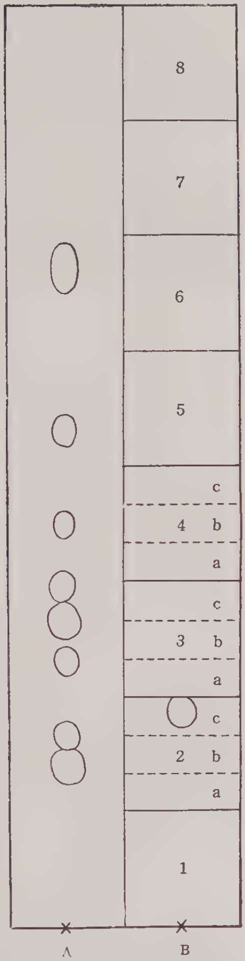


Fig. 1. Paper chromatograms of the amino acid and organic base fractions which were separated by ion exchange resin column[2] from the water extractives of cuttle fish meat.

A, Amino acids fraction, eight spots were detected by the ninhydrin reaction.; B, Organic bases fraction, R_f of the fraction No. 1. = 0.000～0.122, No. 2. = 0.122～0.245, No. 3. = 0.245～0.367, No. 4. = 0.367～0.490, No. 5. = 0.490～0.612, No. 6. = 0.612～0.735, No. 7. = 0.735～0.857 and No. 8. = 0.857～1.000.

In the No. 2C fraction, one spot was detected by the ninhydrin reaction. Solvent: BuOH-AcOH-H_2O (4: 1: 4).

干量漏れていることは認められるが，*Fraction* Ⅳ のアミノ酸区分のペーパークロマトグラムの結果 (Fig. 1) から，イカ肉水抽出液中遊離アミノ酸の殆んどが強酸または強塩基性樹脂のそれぞれに陽イオンまたは陰イオンとして解離吸着されている[3,4] ことが明らかとなつた。このような事実から著者らは以後の実験において，イオン交換樹脂による目的成分である塩基の単離に際し，アミノ酸の挙動を以つて1つの指標として樹脂の分離能を調べることとした。

実験 II. ペーパークロマトグラフィーによる有機塩基区分の還元波成分の分離およびポーラログラフィー並びに紫外部吸収による検索

実験 I の結果から有機塩基区分に現われる $R_f = 0.23$ のニンヒドリン陽性物質が，目的塩基成分と合致するものか否かを検討するため，*Fraction* Ⅲ の有機塩基区分濃縮液 0.3 ml の全量を試料液とし，東洋沪紙 No. 50 (40×40 cm) の原線に直線的に3回繰返して塗布し，ブタノール・酢酸・水 (4：1：4) を用いて帯状展開を行つた。また同一沪紙上にガイドストリップとして，Fig. 1に示すようにアミノ酸区分濃縮液 (A) および有機塩基区分濃縮液 (B) の少量をそれぞれスポットし，同一条件下で展開した。展開終了後の沪紙を風乾，100°C, 10 分間加熱乾燥し展開剤をできる限り除去する。次いでこの沪紙の原線から3cm宛の巾に第1～第7区分まで，および最後の展開前線までの約 4cm 巾の部分を第8区分としてそれぞれ帯状に切り取り更に細片となした沪紙片を Mc Ilvaine's buffer solution (pH 7.0) 6.0ml に一夜浸漬した。著者らはここで核酸構成塩基であるピリミヂン (mono-amine-, monohydroxy-, diamino- および 4, 5, 6-triamine 誘導体[5]) ある

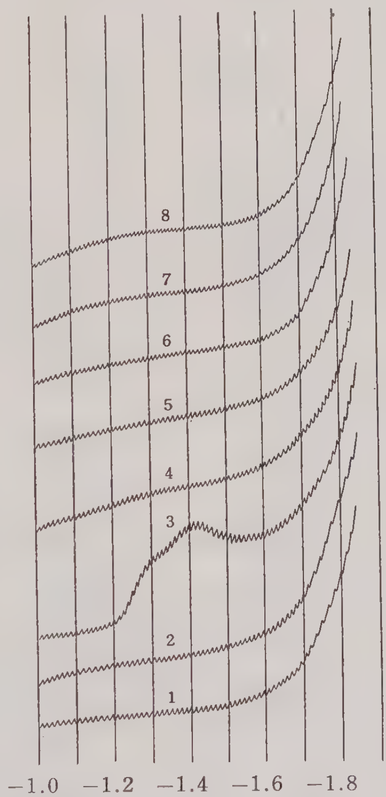


Fig. 2. Polarograms of the fractions in Fig. 1B.

Each figure, 1～8, corresponds with the fraction No. in Fig. 1B. After paper chromatography, each fraction was extracted with the Mc Ilvaine's buffer solution of pH 7.0 and examined by polarography.

いはプリン塩基類（ことにアデニン誘導体[6]）がポーラログラフ還元波を示すことを知り，またこれらが紫外部吸収極大[7]を有することから，上記のごとくして調製した各区分浸出液のポーラログラムを記録し，目的成分のペーパークロマトグラム上における R_f 値を求め，また各区分の紫外部吸収曲線をも記録した。

ポーラログラムの結果は Fig. 2 に示す通りで，第3区分（$R_f=0.25\sim0.37$）に明瞭なる目的成分の還元波を得た。次に各区分の紫外部吸収曲線を記録した結果は，Fig. 3 に示すごとくポーラログラフ還元波の示される同一区分（第3区分）において 272 mμ に特異の紫外部吸収極大を有する曲線が得られた。

すなわち，$R_f=0.25\sim0.37$ に相当する第3区分においてのみ還元波および紫外部に極大を有する吸収曲線が得られたので，再び同一展開条件でペーパークロマトグラフィーを行ない，展開終了後の第3区分を中心とした第2および第4区分についても 1 cm 巾の帯状に切り，Fig. 1 のごとくこれら細片の各々を 2a,

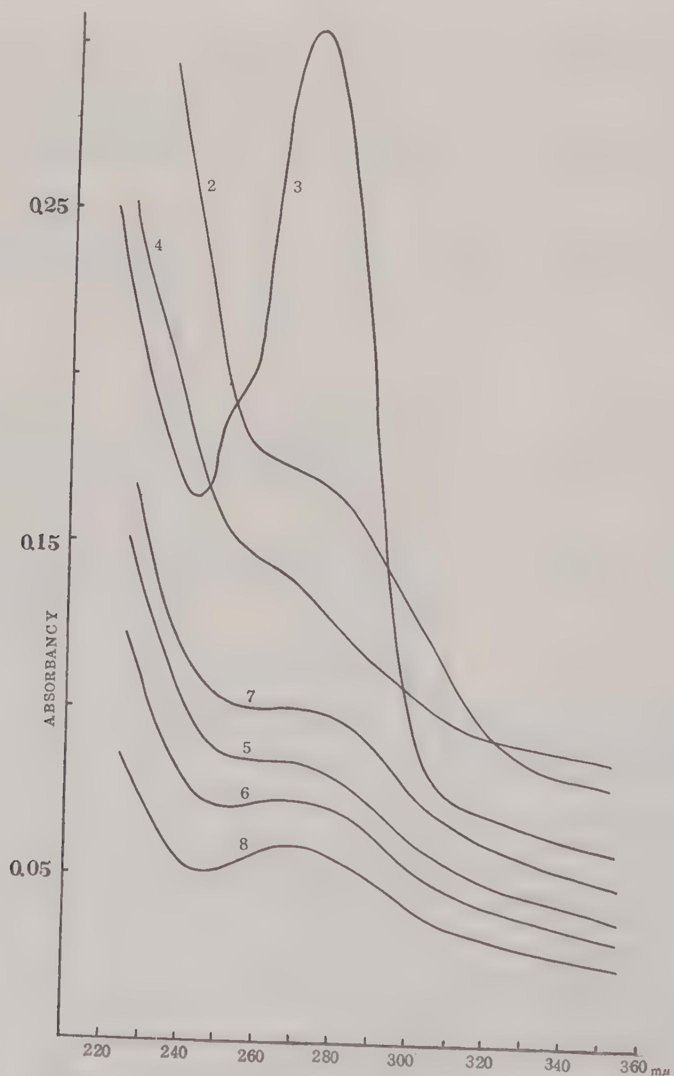


Fig. 3. Ultraviolet absorption spectra of the fractions in Fig. 1B. See Fig. 2 for details.
The absorption maximum was located at 272 mμ in the case of fraction No. 3.

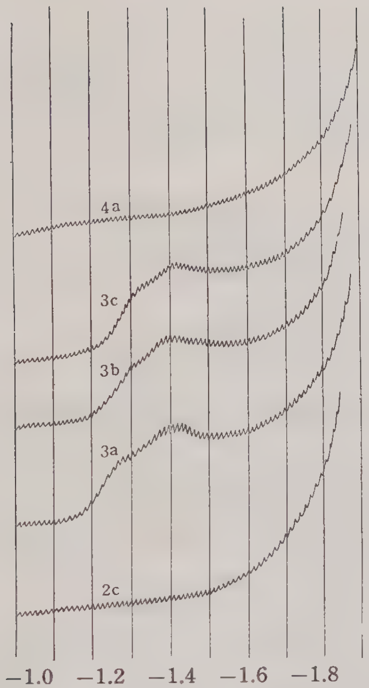


Fig. 4. Polarograms of the subdivided fractions, 2c, 3a, 3b, 3c and 4a in Fig. 1B. The Mc Ilvaine's buffer solution of pH 7.0 was used as extractant and the supporting electrolyte.

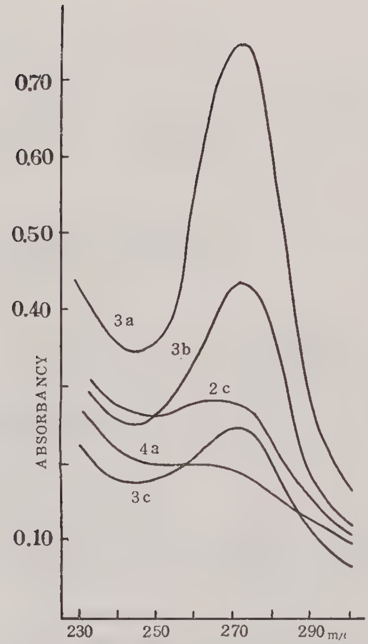


Fig. 5. Absorption spectra of the subdivided fractions, 2c, 3a, 3b, 3c and 4a in Fig. 1B. The Mc Ilvaine's buffer solution of pH 7.0 was used as the extractant.

2b, 2c; 3a, 3b, 3c および 4a, 4b, 4c の各区分とし，前回と同様の処理を施し更に細く検討した結果，Fig. 4 および Fig. 5 に示されるようなポーラログラム並びに紫外部吸収曲線を記録した。またポーラログラフ法による第3区分沪紙よりの回収試験の結果は Fig. 6 に示される通り 97% 以上の回収率を示した。数回の実験でペーパークロマトグラフ法により目的成分をほぼ純粋に単離抽出したさいの還元波はすべて極大波現象を示す傾向にあることが判つた。

結局ポーラログラフ還元波の波高の増減と272*m*μの紫外部吸収極大波長における吸光密度の増減は非常によく一致しており，ペーパークロマトグラム上の目的成分の濃度分布の差が明らかとなつた。次にニンヒドリン反応陽性の 2c 区分には還元波および紫外部吸収極大のいずれをも認め得なかつた。

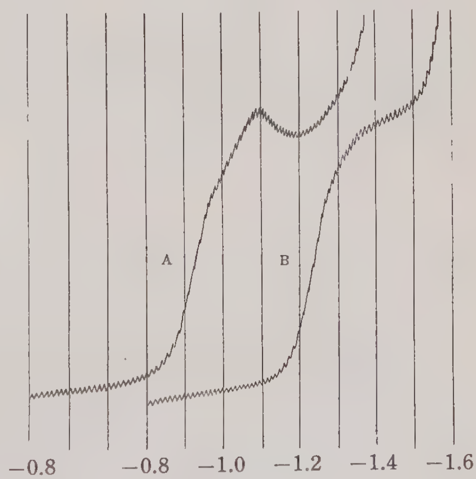


Fig. 6. Polarographic recovery test of the organic base fraction (*Fraction* III[2]).

A, Polarogram of the extractives from the fraction No. 3 of the filter paper (h= 52.0 mm). B, Polarogram of the original solution from the organic bases *Fraction* III[2] before the development on the paper chromatogram.

摘　　　　要

イカ肉水抽出液中のポーラログラフ還元液を示すある種の有基塩基について，イオン交換樹脂およびペーパークロマトグラフィーによる分離を行ない，更に核酸構成塩基であるプリンまたはピリミヂン類が紫外部吸収を示すことから本目的成分についても紫外部吸収の検討を行ない若干の知見を得ることができた。すなわち，

1) イカ肉水抽出液中のポーラログラフ還元波成分のペーパークロマトグラフィーの結果，ブタノール・醋酸・水 (4：1：4) 展開溶媒を用いて R_f 約 0.25〜0.37 の範囲に分離吸着されている。

2) ペーパークロマトグラフィーおよびスペクトロフォトメトリーの分析結果から，目的成分が 272mμ において吸収極大を有する。(水あるいは pH 7.0 の緩衝溶液を溶媒とした時)

3) 目的成分はニンヒドリン反応陰性で，アミノ基は不存のように考えられる。

終りに本研究を行なうに当り御懇篤な御指導を賜つた京都大学教授館勇博士に深甚の謝意を表する。

文　　　　献

1) 福島・菊池・小坂部・岡田： 本誌，**23**，331〜334 (1957).
2) 福島・菊池・小坂部・岡田： 本誌，**24**，144〜147 (1958).
3) 例えば　佐竹一夫： クロマトグラフィー，共立出版社，p. 45〜46 (1955).
4) SAMUELSON, O.: *"Ion Exchangers in Analytical Chemistry"* p. 212 (1953).
5) CAVALIERI, L. F. and LOWY, B. A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **35**, 83 (1952).
6) HEATH, J. C.: *Nature*, **158**, 23 (1946).
7) ERWIN CHARGAFF and J. N. DAVIDSON: *"The Nucleic Acids, Chemistry and Biology"*. **I**, p. 498〜503, Academic press Inc., New York (1955).

海底泥土の採取法

木俣正夫・河合 章・石田祐三郎

(1960年8月24日受理)

THE METHOD FOR SAMPLING OF MARINE BOTTOM MUDS

Masao KIMATA, Akira KAWAI and Yūzaburō ISHIDA*

The biochemical and microbiological properties of bottom muds in a bay or an inland sea may vary owing to the slight differences in layers of muds. In sampling, therefore, it must be given attention to that the layer of muds might be not disturbed, and it should be taken as it is. Using the ordinary sampling-apparatus, the layer of muds is disturbed and it can be hardly taken as it is. Although there is the core-sampler of the apparatus being employed at present, it can be scarcely used, because it is on a very large scale.

In this paper, the simple core-sampler fitted for the purpose is designed, and an example of analytical data of the bottom muds taken from Maizuru bay with this apparatus is shown in the Table 1.

内湾や浅海の底質は，通常丸川式あるいはエクマン式などの採泥装置によつて採取されているが，これらの装置で採取した泥土について化学分析または微生物学的分析を行なうと同一試料でも部分によつてかなり相違し一定の値が得られない場合が多い。底質は表層と深部とではいろいろの点で相違することが知られている[1]が，上記の採泥装置はともに衝撃を与えて底質の一部を噛み切るような仕組みであるからこれらの装置で採取された泥土は表層も深部もある程度混合攪拌された状態にある。したがつて，このような装置で各地点から泥土を採取し，それらの試料について比較研究しようとしても同一試料の部分による差が大きく，他の地点との相違を見出すことが困難な場合が非常に多い。底質を表層からある深さまでそのままの状態で採取するには種々の core-sampler が考案されているが，これらはすべて大規模なものであつて浅海で簡単に使用できるようにはつくられていない。そこで著者らは上記の目的に適したきわめて簡単な装置を考案したので報告する。

I. 採泥装置

1. 構造　Fig. 1 に示したように，この採泥装置は主部，採泥管および弁の三つの部分からできている。

採泥管は長さ 50cm，内径 4cm，厚さ 0.5cm の透明な塩化ビニール管でその下端を底質への侵入を容易にするために刃状に外部から削つてあり，他端は主部と接続できるように外ネジに切つてある。

弁は採泥装置を引きあげる際に採泥管内に採取された泥土の流失を防ぐためのもので，Fig. 2 のように沈下時には Fig. 2A の状態となって空気および水を排出し，引きあげ時には Fig. 2B のようにガラス球がさがつて閉まり採泥管内の試料に上から力が加わらないようになる。この弁は採泥管の上端に装着できるようになつている。

主部は長さ約1mの鉄製パイプ（一端には綱索をとりつけるためのシャックルが装置されており，他端にはソケットを装着するための外ネジが切つてある），重量約 16kg の楕円形鉄製おもり（中央に鉄製パイプを通すために貫通した孔が穿つてある），およびソケット(鉄製パイプおよび採泥管を連結するための内ネジ

* 京都大学農学部 (Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

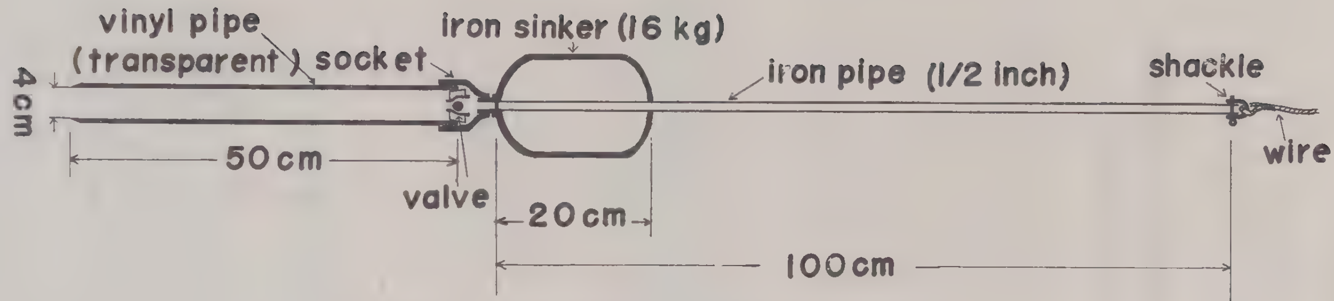


Fig. 1. The apparatus for sampling of bettom mud.

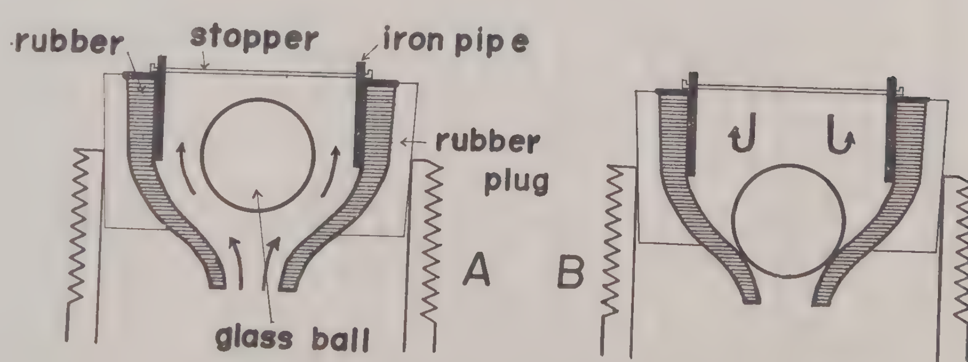


Fig. 2. The value of the core-sampler; A) sinking down, B) drawing up.

が切つてある）からなつている。使用する場合には鉄製パイプにおもりを通し，ソケットおよび綱索を図のように装着する。

2. 採泥方法　まず採泥管の上端の内側（外ネジを切つてある方）に弁を装着した後，この採泥管を主部のソケットにねじこむ。つぎにこれを海中に投下し，その先端が底質に近づいた時，落下速度を小さくし約20 cm/sec とする。これは底質近くの水に乱流の起るのを防ぎ底質表面の攪乱をさまたげるためである。底質に達したら綱索をゆるめそのまま約 1〜2 分間放置する。このようにすれば，自重で採泥管は鉛直に底質中へ侵入する。処要の時間経過したらできるだけ急速に引きあげ，水面直下で採泥管の下端をゴム栓で閉じた後水面に引きあげ，主部から採泥管をはずし，ついで採泥管から弁をはずす。この際，採泥管を常に鉛直状態に保つよう注意する。これは採取した底質表面の攪乱を防止するためである。

つぎに，採泥管内の海水を底質表面が攪乱されないように静かにサイフォンで除去した後，下部から徐々に空気圧を加える。このようにすれば，採取した底質試料は表層から漸次円筒状に採泥管の外へ押し出される。

3. 討　議　採泥管の直径の小さいものすなわち細い採泥管を使用すれば，弁がなくても上部の排水口をより小さくしておけば試料の流失はない。しかし，管壁の摩擦のため底質が圧縮され，自然のままの状態のものを得ることができないのみならず採取試料の量も少ない欠点がある。

おもりを軽くしメッセンジャーを用い衝撃を与える方法では底質表面が攪乱されるのみならず採泥管が急激に底質中へ侵入するため底質が圧縮され自然状態のまま採取できず，また採泥管が鉛直に底質中へ侵入しない恐れがある。実験の結果，上述程度のおもりを用い，その自重によつて沈下させる方法が最も適していることがわかつた。

採泥管は必ずしも塩化ビニール製のものでなくてもよいが金属製管では試料を外部から直接観察できない不便があり，ガラス管では破損率がきわめて高い欠点がある。したがつて透明の塩化ビニール管を使用すれば腐蝕の恐れもなくまた外部から採取試料の状態をそのまま観察できてきわめて好都合である。

主部の鉄製パイプが長いと水の流れによる影響があらわれて採泥管を鉛直に保つことが困難となり，また短かいと重心が高くなつて不安定である。多くの実験をくり返し 1m 前後が適当であると判断した。

採泥管から試料をとり出すのにガス圧によるのが最適であるが，このガスが試料に対して影響を与える場合もあると考えられるので，アルゴンまたは窒素ガスを使用することが望ましい。しかし著者らの実験では Eh 値，硫化水素など酸素の影響をうけやすいと思われるものでも空気圧によつて取り出した場合に大きな変化が見られなかつたから恐らく通常の場合には空気を使用しても差支えないであろう。

海深 40m 附近の海底まではこの装置によつて充分採泥できることを確認したが，それ以上の深海についてはまだ試験を実施していないので明言はできない。しかし，潮流がさほど大きくないところでは恐らく更にある程度の深さまで使用可能であると思われる。

なお，この装置は底質が泥土または砂泥の場合には有効に使用できるが，砂のみの場合にはやや不適当である。この場合にはおもりを数回上下させて衝撃を与えればよい。砂の場合は衝撃を与えても試料が圧縮されることはほとんどなく，また表面が攪乱されても泥土の場合ほど大きな影響はないと考えられる。

II. 採　　泥

上記の採泥装置を使用して舞鶴湾内の底質を調査した一例を示せば，つぎのとおりである。

表層（厚さ 1〜2 mm）は灰茶褐色の浮泥であり，その下は貝殻の破片などを含み真黒色泥状であり，深部すなわち表層から遠ざかるにしたがつて粘土状を呈するようになり，黒色の程度などは地点によつて異なる。円筒状に採取した試料を表層を除き順次一定の間隔に分割しその各層について，硫酸塩還元細菌数，全硫化物量，硫酸塩量および C.O.D. を調べた結果を Table 1 に示した。すなわち海底土は全く同一地点でもその層がわずか数 cm 異なれば性状が著しく異なることがわかる。したがつて海底土の生化学的性状を研究調査する場合には必ずこのことを充分考慮しなければならない。

Table 1. Number of sulfate-reducing bacteria and some chemical properties in different layers of bottom mud collected at the same station in Maizuru Bay.

Depth of layer in cm.	Number of sulfate-reducers (M.P.N. in 1g of wet mud)	C. O. D. (O_2 consumed mg in 1g dry mud)	Content of total sulfides (H_2S mg in 1g dry mud)	Content of sulfate (SO_4 mg in 1g dry mud)
Station A.				
0～ 2	1.2×10^4	36	0.85	4.8
3～ 5	9×10^1	33	0.77	12.9
6～ 8	1.9×10^2	25	0.27	5.2
9～11	3.2×10^2	26	0.22	8.2
12～14	1.2×10^2	30	0.10	6.9
15～17	6×10^1	37	0.01	4.0
Station B.				
0～ 2	1.8×10^4	21	0.37	6.8
3～ 5	7×10^3	19	0.12	5.1
6～ 8	4×10^3	16	0.07	3.6
12～14	2.3×10^1	15	0.02	3.3
15～17	1.7×10^2	17	0.01	1.4
21～23	5>	19	0.01	2.0

要　　　約

1. 海底泥土を表層から数 10cm の深部まで攪乱することなくそのままの状態で円筒状に採取することができ，その上構造も使用法も簡単な装置を考案した。

2. 海底泥土はその層が数 cm 相違してもその生化学的性状が異なるから生化学的研究の目的で海底土を採取する場合には表層から深部まで攪乱することなくそのままの状態で採取するように注意しなければならない。

文　　　献

1) OPPENHEIMER, C. H. and KORNICKER, L. S.: Publ. Inst. Mar. Sci., **5**, 5～15 (1958).

海底泥土中の硫酸塩還元細菌の計算について

木俣正夫・河合　章・石田祐三郎

(1960年8月24日受理)

ON THE COUNT OF CELLS OF SULFATE-REDUCING BACTERIA PRESENT IN BOTTOM MUDS OF SEA

Masao KIMATA, Akira KAWAI and Yūzaburō ISHIDA*

Generally, the estimation of total counts of sulfate-reducing bacteria present in bottom muds of the sea is carried out by the decimal dilution method with a single tube. However, results obtained by this method appear to have an appreciable error.

In this paper, two methods are examined in order to obtain the more accurate bacterial count, i.e. (1) the method to estimate M.P.N. index which is usually used in case of the coli-aerogenes group (in this method the semi-solid medium is employed, as shown in Table 1); and (2) the method to estimate the total count from the number of colonies formed on the agar plate under an anaerobic condition. From the data as shown in Tables 2 and 3, the former seems to be more suitable for the purpose.

一般に偏性嫌気性細菌の培養はむずかしく，特に菌数の測定は困難である。硫酸塩還元細菌は半凝固体培地を用いる高層培養法による場合に最もよく発育することが認められている。したがつて硫酸塩還元細菌の計数について，著者らは主としてこの方法によつて行つてきた[1),2)]。しかしながら，従来は単に十進稀釈法によつて得られた値から算出しているので，試料中に存在する菌数は単に概数として桁数で表わされるのみであるから，泥土中で行なわれる諸種の生化学的作用あるいは性質と比較研究する場合きわめて不都合である。よつてより正確に計数し得るための方法を吟味検討したので報告する。

実験および討議

1. 最確数による方法

Table 1 に示した組成の培養基**を用い，大腸菌の計数に広く用いられている最確数[3)]を求める方法を準用し，培養温度 30°C，2週間後***に検べ，培養基の黒変したものを陽性とした。結果は Table 2 のとおりである。

2. 集落数から求める方法

一般に寒天平板による偏性嫌気性細菌の培養は困難であり，この細菌もまた例外ではないと考えられていた。従来硫酸塩還元細菌に集落を形成させるためには寒天濃度を 1.5% にした以外は medium I[1)] と同じ組成の固形培養基(前もつて加温融解しておいたもの)に稀釈菌液を接種してよく混和し，ついで凝固しないうちにこれをあらかじめ滅菌しておいたガラス管中に封入して空気を遮断する方法が構ぜられていた。このようにすると，寒天内部に黒色点状の集落が形成される[4)]。このような方法は一時に多数の試料を扱う場合に

---

* 京都大学農学部 (Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

** 従来，用いられていた medium I[1)] は幾分沈澱物を生じて実験上不都合であつたから，その組成の一部を改良した。硫酸塩還元細菌はこの改良培地でも medium I と全く同様に発育することができる。

*** 通常は 2～3 日で黒変するが，なかには 10 日以上を要するものもある。しかし，2週間以上経過しても黒変しないものはその後，黒変することはほとんどないからである。

Table 1. Composition of the medium.

Ca-lactate	3.0 g
Beef-extract	1.0 g
Peptone	2.0 g
K_2HPO_4	0.05 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 g
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 g
EDTA-Na	0.4 g
L-ascorbic acid	0.1 g
Agar	3.0 g
Sea water (filtered)	1000 ml
pH	7.5

Preparation:

1) Dissolve peptone and beef-extract in 500 ml of double strength sea water.
2) Dissolve agar in 200 ml of distilled water by boiling.
3) Dissolve Ca-lactate in 100 ml of distilled water by boiling.
4) Dissolve $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ and EDTA-Na in 100 ml of distilled water.
5) Dissolve K_2HPO_4 in 100 ml of distilled water.
6) Autoclave (1), (2), (3), (4) and (5) respectively.
7) Mix them and add L-ascorbic acid aseptically.
8) Distribute into test tubes (12×120 mm) under aseptic condition.

Table 2. Number of positive tubes in the extinction dilution method.

Samples	Degree of dilution of sample				M.P.N. in 1g of wet mud
	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	
1**	3	2	0	0	96×10^2
2*	5	4	1	0	17×10^3
3*	2	0	0	0	45×10^1
4*	0	0	0	0	$< 10^2$
5*	1	1	0	0	40×10^1
6*	5	5	1	0	35×10^3
7*	5	5	1	0	35×10^3
8*	5	4	1	0	17×10^3
9*	3	0	1	0	11×10^2

* Five tubes were made in decimal dilution.
** Three tubes were made in decimal dilution.

Table 3. Number of black colonies formed on the agar plate.

Samples	Degree of dilution of sample		
	$\times 10^2$	$\times 10^3$	$\times 10^4$
1	9	1	0
	3	0	0
2	46	4	0
	28	3	0
3	0	0	0
	0	0	0
4	0	0	0
	0	0	0
5	3	0	0
	7	0	0
6	80	4	2
	110	6	1
7	36	3	0
	39	3	0
8	30	1	0
	35	2	0
9	15	0	0
	26	0	0

は適さない。そこで著者らは，ガラス管中に封入する代りに混和寒天平板（寒天濃度を 1.5% にした以外は Table 1 と同じ組成）を作り，ROSENTHAL の方法によつて嫌気培養を行なつたところ明瞭な黒色集落を生ずることを確認した。しかしこの集落の大きさは大小さまざまであつて計数にはやや不適当であるが全く不可能ではなかつた。よつてこの方法により前記最確数の実験に用いたものと全く同一試料について実験を行なつた。培養温度 30°C，1 週間後*の結果は Table 3 のとおりである。

上記の結果から，平板に発生した集落数は同一試料において普通の好気性細菌の場合に見られる値に比べて，幾分誤差が大きいとはいえ，ほぼ等しい値が得られていることがわかる。また最確数は集落数から算出した値より試料 5 および 9 以外は一桁程度大きい。いずれの値が正しいかということは断定できないが，恐らく後者の方がより正確ではなかろうか。大腸菌の最確数を求める方法をこの細菌に応用しても大きな誤りはないと考えられ，かつこれまでのように概数として桁数で表わすよりは正確な値であると思われる。したがつて手技の難易などの点から硫酸塩還元細菌の計数には大腸菌最確数を求める方法を準用するのが適当で

* 1 週間以上経過すると集落が非常に大きくなるものがあり，他の集落と融合して計数ができなくなる場合があるからである。

あろう。

結　　論

海底土中の硫酸塩還元細菌の計数には Table 1 に示した培養基を用いて，大腸菌群最確数を求める方法を準用するのがよい。

附記　供試泥土の稀釈

まず供試泥土の一定量に一定量の滅菌海水を加えて均一の懸濁液を作り，これを更に順次稀釈するわけであるが，この場合振盪条件が計数にかなり影響するのではないかと考えられたのでつぎの実験を行つた。

すなわち，試料 1g を内容約 200 ml の滅菌共栓付試薬ビンにとり，100 ml の滅菌海水を加えて手で数分間振盪した場合と振盪器（横振型，振幅 10cm，振動数 170 回/分）にかけて一定時間振盪した場合と比較した。

Table 4. Effect of shaking periods on the bacterial count.

Period of shaking time (min)	Degree of dilution				M. P. N. in 1g of wet mud
	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	
0*	5	5	0	0	24×10^3
1	5	5	1	0	35×10^3
3	5	5	0	0	24×10^3
5	5	5	1	1	46×10^3
10	5	5	0	0	24×10^3
30	5	5	2	0	54×10^3

* Only shaked by hand.

Table 4 に示したように，得られた値には幾分の相違はあるが，これは必ずしも振盪条件の差に基づくためとは考えられず，むしろ実験誤差と考えるべきであろう。

したがつて，前記実験条件下では，振盪条件は特に考慮する必要はないと思われる。

文　　献

1) 木俣正夫・門田　元・畑　幸彦・田島卓明: 本誌，**21**，102～108 (1955).
2) 木俣正夫・門田　元・畑　幸彦・田島卓明: 本誌，**21**，109～112 (1955).
3) 伝研学友会: "細菌学実習提要"，6 版，pp. 497 (1955)，丸善，東京.
4) 木俣正夫・門田　元・畑　幸彦・三好英夫: 本誌，**22**，701～707 (1955).

雑　　録

○ 学会賞詮衡委員会

日　時　昭和 35 年 10 月6日　午前 10 時 30 分
場　所　東北大学農学部会議室
出席者　委員長以下 10 名
議　事

1. 次の各賞に対し授賞候補者およびその論著を推薦することとした。
   a. 水産学会賞
      一般関係　　伊藤　隆氏　養鰻池の水変りに関する研究
      化学関係　　松本重一郎氏　イカ肉アクトミオシンの研究（英文）
   b. 機械学会賞
      葉室親正氏　底曳網と刺網との網成り測定とその漁獲性能に関する研究
2. 次の各賞は今回は推薦しないこととした。
   農学賞，朝日賞

○ 関東在住役員会

日　時　昭和 35 年 11 月 14 日午後2時
場　所　東京水産大学大会議室
出席者　会長以下 21 名
議　事

1. 科学技術庁よりの技術士試験関係事項についての問い合わせについては，水産部門中の漁業の内容に漁船，水産加工の内容に水産加工機械，増殖の内容に増殖土木，魚病，餌料を加えるのが望ましいと回答することにした。
2. 学術振興会流動研究員および奨学研究生詮衡委員候補者に森高次郎氏を推薦することとした。
3. 科学技術庁原子力局よりの電子力関係文献抄録については原案に賛同し，取り扱いを編集関係で行うこととした。
4. シンポジウムについて
   a. シンポジウムについてひろく希望テーマを募集し，それについて4月年会の評議員会で審議し，企画者を決めて依頼する。
   b. 昭和 37 年秋開催，「以西底曳網漁業に関するシンポジウム」を期日の約1年前に和英両文で予告する。
5. 入会承認　　個人　11 名　　団体　1.

○ 編 集 会 議

日　時　昭和 35 年 11 月 14 日午後4時 30 分
場　所　東京水産大学会議室
出席者　編集長以下9名
議　事

1. 電子力関係文献抄録は保科編集理事が担当することとした。
2. 英文抄録料を従来通りとする。（1語 3円）
3. 会則変更については次回審議することとした。

文部省科学研究費等分科審議会委員

昭和 35 年度文部省科学研究費等分科審議会委員橋本芳郎氏の任期満了にともなう次期委員候補者について評議員による投票の結果，岡田郁之助氏および小野豊樹氏が選出されたので学術会議に報告した。なお上記の結果を農学会に報告後，若干数の投票があつたが期日に遅れているので無効としたことを附記します。

新 着 外 国 文 献 案 内

(1960. 11.1—11.30)

PERIODICALS

Acta Hydrobiologica. Cracow. Vol. 2, Fasc. 1, 1960.

Administration Report of the Director of National Museums for 1959. Part IV. Science and Art (E). Colombo.

Annual Report for the year 1959. Inter-American Tropical Tuna Commission.

Australian Journal of Marine and Freshwater Research. Vol. 11, No. 2, 1960.

Bulletin No. 122, 1960. (Measuring the Production of Marine Phytoplankton) Fisheries Research Board of Canada.

Bulletin de l'Institut International du Froid. Tom XL, No. 4, 1960.

Commercial Fisheries Outlook. U. S. Fish and Wildlife Service, Washington, October-December 1960,

Commercial Fisheries Review, U. S. Fish. and Wildlife Service, Washington, Vol. 22, No. 8, 1960,

Fauna Fennica. 6. 1960. (List of Finnish Trichoptera). Helsinki.

Fisheries Statistics of the Philippines. 1959 (1960).

Journal of the Fisheries Research Board of Canada. Vol. 17, No. 5, 1960.

Il Giornale della Pesca. Rome. Anno X, No. 17, 1960,

Information für die Fischwirtschaft. Hamburg. Jahrgang 7, Nr. 4, 1960.

Investigational Report No. 42. 1960. Union of South Africa, Dept. Commerce and Industries, Division of Fisheries.

List of Accessions to the Library. Science Museum Library. London. Nos., 1540, 1541, 1542, 1543. 1544. (1960).

Pacific Naturalist (Contributions from the Beaudette Foundation for Biological Research). Solvang. Vol. 1. No. 1, 1958. No. 2, 1959. No. 3-4, 1959. No. 5, 1959. No. 6, 1959. No. 7, 1959. No. 8, 1959, Nos. 9-10. 1959. Nos. 11-12. 1959. No. 13, 1959. No. 14, 1960. Nos. 15, 1960. Nos. 16-17. 1960. No. 18, 1960. Nos. 19-20, 1960. Nos. 21-22, 1960.

Pacific Science, Honolulu, Vol. XIV, No. 4, 1960.

Report of the International Pacific Halibut Commission. Seattle. Nos. 28, 29, 1960.

Revue des travaux de l'Institut des peches maritimes. Paris. Tom XXIV, Fasc. 2, 1960.

Report. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations. State of California. Marine Research Committee. Vol. VII, 1 January 1958 to 30 June 1959. (1960).

Spolia Zeylanica. Section Geology. Zoology. Anthropology. Colombo Museum. Colomb, Vol, 29. Part 1, 1960.

Tidsskrift for Hermetikindustri. Kristiania. (Norwegian Canners Export Journal), Aargang 46,

Nr. 9, 1960.

U. S. Industrial Digest. International Communications. Inc., New York. Vol. 2, No. 9, 1960.

Vestnik Ceskoslovenske Spolecnosti Zoologicke. (Acta societatis zoologica Bohemoslovenicae) Tom 24, Nos. 2, 3, 1960.

Вопросы Ихтиологии. Академия Наук СССР. Выруск 15, 1950.

Зырник Праць Зоологічного Музею. Академія Наук Українськоі РСР. No. 29, 1960.

Известия Академии Наук СССР. Серия биологическая. No. 5, 1966.

Рыбоводство и Рыголовство. Министерства Сельского Хозяйства СССР. No. 5, 1960.

Труды Всесоюзного Гидробиологического Общества. Акадзмия Наук СССР. Том. X, 1960.

REPRINT

Allen, G. H.: (1959) Growth of Marked Silver Salmon (Oncorhynchus kisutch of the 1950 Brood in Puget Sound. Trans-actions of the American Fisheries Society. Vol, 88, pp. 310-318.

Batts, B. S.: (1960) Further Occurrence of the California Pompano, Palometa simillima (Ayres). in Puget Sound. Washington. Copeia. 1960. No. 2, pp. 146-147.

Birnøe, K. E.: Metoder til bestemmelse vand eller tørstof i fødevarer. Konserves Vol. 14, Nr. 4, s. 37.

Boetius, J. and Bramsnaes, F. 1953: Opbervaring af Levende Hummer (Storage of Live Lobster) Meddelelse fra Fiskeriministeriets. Forsogslaboratorium.

Bramsnaes, F.: (1955): Poisson et Crustace Congeles. Annexe 1955-1. Supplement au Bulletin de l'Institut International du Froid. pp. 83-94.

Bramsnaes, F.—Hansen, E. W.: (1955) Il Trattamento del Pescato e del Filetti Freschi di Pesce in Danimarca. Estratto da Atti del IV Congresso Nazionale del Freddo. pp. 115-122.

Bramsnaes, F.: (1957) Handling and Chilling of Fresh Fish on Vessels at Sea. FAO Fisheries Bulletin. Vol. X, No. 1, pp. 1-17.

Bramsnaes, F.: (1959) La Conservation du Poisson par le Froid. Revue Generale du Froid. pp. 3-10.

Colwell, R. R. and Liston, J.: (1960) Microbiology of Shellfish. Bacteriological Study of the Natural Flora of Pacific Oysters (Crassostrea gigas). Applied Microbiology. Vol. 8, No. 2, pp. 104-109.

Connell J. J.: (1960) Changes in the Adenosinetriphophates Activity and Sulphydryl Groups of Cod Flesh during Frozen Storage. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1960. No. 5, pp. 245-249.

Connell, J. J.: (1960) Studies on the Proteins of Fish Skeletal Muscle. 7. Denaturation and Aggregation Cod Myosin. iochem. J. Vol. 75, pp. 530-533.

Eddie, G. C. Propulation and Processing and Processing Machinery for Deep-Sea Trawlers. Fishing Boats of the World. pp. 1-8.

Eisler, R. and Backiel, T.: (1960) Narcctization of Chinook Salmon Fingerlings with Tricaine Methanesulfonate (M. S. 222). Transactions American Fisheries Society Vol. 89. No. 2. pp. 164-167.

Hansen. P.: (1959) Holdbarhedsproblemer ved ispakning af damørreder. (Icing of trout). Ferskvandsfiskeribladet Vol. 57, Nr. 3. pp. 5.

Hansen, P.: (1959) Ensilering af Fisk og Fiskeaffald. Meddelelse fra Fiskeriministriets Forsogs-

laboratorium. Maj 1939. pp. 1–26.

Love, R. M.: (1960) Water Content of Cod (Gadus callarias L.) Muscle. Nature Vol. 185. No. 4714. p. 692.

Parry, G. and Holliday, F. G. T.: (1960) An Experimental Analysis of the Function of the Pseudobranch in Teleosts. Journal of Experimental Biology. Vol. 37, No. 2, pp. 344-354.

Riemann, H.: (1953) Desinfektion af trae med henblik paa forskellige stoffers til desinfektion af fiskasser. (Desinfection of Fish Boxes) Konserves Vol. 11, Nr. 2, pp. 21-23.

Roos, J. F.: (1959) Feeding Habits of the Dolly Varden, Salvelxnus malma (Wslbaum), at Chignik, Alaska. Transactions of the American Fisheries Society. Vol. 88, pp. 253-250.

Royce, W. F.: (1959) On the Possibilities of Improving Salmon Spawning Areas. Transactions of the Twenty-Fourth North American Wildlife Conference. March 2, 3, and 4, 1959. Wildlife Management Institute. Washington. D. C.

Spencer, R.: (1960) Indigenous Marine Bacteriphage. Journal of the Bacteriology. Vol. 79, No. 4, p. 614.

Van Cleve, R.: (1959) The Biological and Economic Problem in Marine Fisheries Management. Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute. Twelfth Annual Session. November, 1959. pp. 67–74.

SEPARATE VOLUMES

Академия Наук СССР. (1960)· Труды Совещания по Биологическим Основам Океанического Рыьоловства.

Deraniyagala, P. E. P.: (1959) Some Sinhalia Combative, Field and Aquatic Sports and Games. National Museum of Ceylon.

正　誤　表

Vol. 26, No. 10

p. 1045　11 行　hydroxide の後に , を入れる

p. 1048　27 行　a を are に訂正する

昭和三十五年十二月二十日 印刷
昭和三十五年十二月二十五日 発行

第二十六巻 第十二号

本号定価 150 円
(送料別)

編集兼発行者　大島泰雄
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内

発行所　日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内
振替口座　東京　59529番
電話 (451) 2200番

印刷者　笠井康頼

印刷所　株式会社 国際文献印刷社

発売所　株式会社 国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (341) 7446・9635